

(12) DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITÉ DE COOPÉRATION
EN MATIÈRE DE BREVETS (PCT)

(19) Organisation Mondiale de la Propriété
Intellectuelle
Bureau international



(43) Date de la publication internationale
2 mai 2002 (02.05.2002)

PCT

(10) Numéro de publication internationale
WO 02/35236 A1

(51) Classification internationale des brevets⁷ :
G01N 33/68, A61K 39/39

(21) Numéro de la demande internationale :
PCT/FR01/03352

(22) Date de dépôt international :
26 octobre 2001 (26.10.2001)

(25) Langue de dépôt : français

(26) Langue de publication : français

(30) Données relatives à la priorité :
00/13883 27 octobre 2000 (27.10.2000) FR

(71) Déposant (pour tous les États désignés sauf US) : PIERRE
FABRE MEDICAMENT [FR/FR]; 45, place Abel Gance,
F-92100 Boulogne-Billancourt (FR).

(72) Inventeurs; et

(75) Inventeurs/Déposants (pour US seulement) : JEANNIN,
Pascale [FR/FR]; 8, allée des Cèdres, F-74160 Saint Julien

en Genevois (FR). MAGISTRELLI, Giovanni [IT/FR];
242, rue du Pré-Bailly, F-01170 Gex (FR). HERBAULT,
Nathalie [FR/FR]; 394, rue des Frères, F-74350 Cruseilles
(FR). BONNEFOY, Jean-Yves [FR/FR]; Les Noyers,
F-74350 Le Sappey (FR).

(74) Mandataires : MARTIN, Jean-Jacques etc.; Cabinet
Regimbeau, 20, rue de Chazelles, F-75847 Paris Cedex 17
(FR).

(81) États désignés (national) : AU, BR, CA, CN, JP, MX, US,
ZA.

(84) États désignés (régional) : brevet européen (AT, BE, CH,
CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT,
SE, TR).

Déclaration en vertu de la règle 4.17 :

— relative à la qualité d'inventeur (règle 4.17.iv)) pour US
seulement

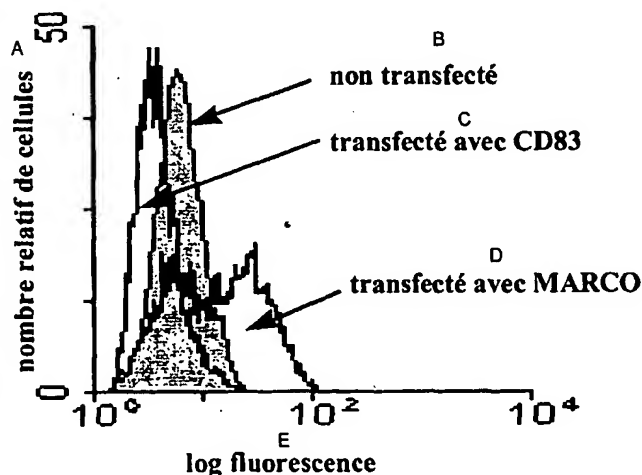
Publiée :

— avec rapport de recherche internationale

[Suite sur la page suivante]

(54) Title: METHOD FOR IDENTIFYING NOVEL MOLECULES BINDING WITH THE SCAVENGER RECEPTORS AND
SIGNALLED VIA A TOLL RECEPTOR

(54) Titre : PROCEDE D'IDENTIFICATION DE NOUVELLES MOLECULES SE LIANT AUX RECEPTEURS SCAVENGERS
ET SIGNALEES VIA UN RECEPTEUR TOLL



A...RELATIVE NUMBER OF CELLS
B...NON-TRANSFECTED
C...TRANSFECTED WITH CD83
D...TRANSFECTED WITH MARCO
E...FLUORESCENCE LOG

(57) Abstract: The invention concerns a method for
identifying novel molecules binding with scavenger
receptors and signalled via a Toll receptor, and the
use of said identified novel molecules for preparing
a pharmaceutical composition, in particular for pro-
phylactic or therapeutic treatment of viral, bacterial,
parasitic and fungal infections or for prophylactic or
therapeutic treatment of cancers.

(57) Abrégé : L'invention concerne un procédé
d'identification de nouvelles molécules se liant aux
récepteurs scavengers et signalées via un récepteur
Toll, tout comme l'utilisation de ces nouvelles
molécules identifiées pour la préparation d'une
composition pharmaceutique, notamment destinée
au traitement prophylactique ou thérapeutique
des infections virales, bactériennes, parasitaires
et fongiques ou au traitement prophylactique ou
thérapeutique des cancers.

WO 02/35236 A1



— avant l'expiration du délai prévu pour la modification des revendications, sera republiée si des modifications sont reçues

En ce qui concerne les codes à deux lettres et autres abréviations, se référer aux "Notes explicatives relatives aux codes et abréviations" figurant au début de chaque numéro ordinaire de la Gazette du PCT.

PROCEDE D'IDENTIFICATION DE NOUVELLES MOLECULES SE LIANT AUX
RECEPTEURS SCAVENGERS ET SIGNALEES VIA UN RECEPTEUR TOLL.

L'invention concerne un procédé d'identification de nouvelles molécules se liant
5 aux récepteurs scavengers et signalées via un récepteur Toll, tout comme l'utilisation de
ces nouvelles molécules identifiées pour la préparation d'une composition
pharmaceutique, notamment destinée au traitement prophylactique ou thérapeutique des
infections virales, bactériennes, parasitaires et fongiques ou au traitement
prophylactique ou thérapeutique des cancers.

10 La vaccination est un moyen efficace de prévenir ou de réduire les infections
virales ou bactériennes. Le succès des campagnes de vaccination dans ces domaines a
permis d'étendre le concept de vaccin jusqu'alors utilisé dans le domaine de
l'infectiologie aux domaines du cancer et des maladies auto-immunes. Les antigènes
vaccinaux administrés seuls chez l'hôte ne sont souvent pas assez immunogéniques pour
15 induire une réponse immunitaire, et doivent donc être associés à un adjuvant ou couplés
à une protéine porteuse pour induire (ou augmenter) leur immunogénicité. Dans ces
conditions, seule une réponse immune de type humorale peut être induite, réponse au
cours de laquelle les antigènes exogènes sont présentés dans le contexte des molécules
du MHC classe II aux lymphocytes T CD4.

20 Ainsi, de nouveaux porteurs ou adjuvants permettant d'augmenter ou d'induire
l'immunogénicité sont constamment recherchés.

De plus, dans le cadre d'une thérapie antivirale, la génération de lymphocytes T
cytotoxiques (CTL) capables de reconnaître et de détruire le virus est de toute
importance (Bachmann et al., Eur. J. Immunol., 24, 2228-2236, 1994 ; Borrow P., J.
25 Virol. Hepat., 4, 16-24, 1997), comme l'attestent de nombreuses études montrant, *in*
vivo, le rôle protecteur des réponses dirigées contre les épitopes viraux (Arvin AM, J.
Inf. Dis., 166, S35-S41, 1992 ; Koszinowski et al., Immunol. Lett., 16, 185-192, 1987).
L'importance des réponses CTL a aussi été fortement documentée dans les réponses
antitumorales notamment celles dirigées contre les cellules de mélanome (revue dans
30 Rivoltini et al., Crit. Rev. Immunol., 18, 55-63, 1998). Le ou les épitopes CTL
(séquences peptidiques interagissant avec les molécules de classe I et présentées aux
lymphocytes T CD8+) ont été définis pour plusieurs antigènes. Cependant, la difficulté

réside dans la génération de CTL *in vivo*, due à la faible immunogénicité de ces peptides (Melief, Adv. Cancer Res., 58, 143-175, 1992 ; Nandaz et Sercarz, Cell, 82, 13-17, 1995).

Des recherches s'orientent par conséquent vers l'identification de nouveaux
5 adjuvants, ou de système de délivrance d'antigènes («delivery system»), permettant d'induire des CTL. Grâce à leur efficacité à présenter les antigènes et à stimuler le système immunitaire, les cellules dendritiques, par exemple, ont été utilisées pour générer des réponses CTL antivirales (Ludewig B et al., J. Virol., 72, 3812-3818, 1998 ; Brossard P. et al., J. Immunol., 158, 3270-3276, 1997) ou anticancéreuses (Nestle F.O.
10 et al., Nat. Med., 4, 328-332, 1998).

Les cellules dendritiques (DC) sont les cellules présentatrices d'antigène les plus efficaces et en particulier les seules capables d'initier une réponse CTL (Banchereau, J. et al., Nature, 392, 245-252, 1998, et Watts, C., Nature Cell Biol., 1, 152-154, 1999). Les DC sont la cible de nombreuses stratégies vaccinales (Timmerman J. M., et al.,
15 Annu. Rev. Med., 50, 507-529, 1999). En effet, de nombreux arguments expérimentaux montrent que ce sont les DC immatures qui seraient capables dans certaines conditions de présenter les antigènes exogènes dans le CMH de classe I aux CTL. Les DC existent dans deux états de différenciation. Les DC présentes dans les tissus périphériques sont immatures et agissent comme des sentinelles qui capturent les antigènes exogènes.
20 Après un contact avec les antigènes ou des signaux de stress, elles subissent un processus de maturation, acquièrent l'expression de nombreuses molécules de costimulation et migrent dans les ganglions où elles présentent l'antigène aux lymphocytes T naïfs. Le phénomène de cross-présentation (encore connu sous le nom de cross-priming) qui permet à un antigène exogène d'accéder à une présentation dans
25 les molécules des MHC classe I est actuellement très étudié (Yewdell J. W., et al., Adv. Immunol., 73, 1-77, 1999). Il est actuellement admis que la façon dont l'antigène est capturé joue un rôle. Bien qu'il ait été observé que des antigènes internalisés par des moyens non spécifiques de type phagocytose ou macropinocytose étaient dans certains cas présentés par des DC ou des macrophages dans le contexte des CMH classe I, il est
30 maintenant admis que la capture des antigènes par le biais d'un récepteur favorise l'accès des antigènes au cytosol des APC et donc à la présentation dans le CMH classe I. Des exemples sont fournis par les immunocomplexes et les HSP qui sont capturés par

les DC via des récepteurs spécifiques et qui sont présentés dans les molécules du CMH de classe I (Rodriguez A., et al., Nat. Cell Biol., 1, 362-368, 1999).

Des approches vaccinales ont ainsi consisté à charger les cellules dendritiques *ex vivo* avec l'antigène d'intérêt (peptides ou lysat cellulaire) et réimplanter ces cellules chez le patient. D'autres approches consistent à transfecter *ex vivo* les cellules dendritiques avec le gène codant pour l'antigène d'intérêt et à réinjecter ces cellules transfectées (Gilboa E. et al., Cancer Immunol. Immunother., 46, 82-87, 1998). Ces approches ont été utilisées avec succès chez la souris et chez l'homme (Hsu F.J. et al., Nat. Med., 2, 52-58, 1996) mais restent néanmoins complexes dans la mesure où ces cellules doivent être traitées *ex vivo* (transformation des cellules ou internalisation des antigènes) et transplantées dans l'organisme hôte. De même, l'utilisation de particules de type viral (Layton G.T. et al., J. Immunol., 151, 1097-1107, 1993) ou de l'adjuvant incomplet de Freund (IFA) (Valmori et al., Eur. J. Immunol., 24, 1458-1462, 1994) permet de générer des réponses CTL. Toutefois, une vaccination antivirale ou antitumorale réalisée avec des peptides correspondant à des épitopes CTL et en présence d'un tel adjuvant peuvent conduire à un état de tolérance spécifique qui peut conduire dans certains cas à l'effet contraire recherché, c'est-à-dire à une diminution de la réponse immune (Toes et al., Proc. Nat. Acad. Sci., USA, 93, 7855-7860, 1996).

Ainsi, il existe aujourd'hui un grand besoin de disposer d'un composé qui, associé à une molécule, notamment un antigène ou haptène, soit capable de générer une réponse immunitaire, et notamment une réponse CTL, dirigée contre ladite molécule. Un tel composé pourrait en particulier être utilisé pour la préparation d'une composition vaccinale destinée à induire une protection immunitaire, notamment de type CTL, antiviral, antibactérienne, antifongique, antiparasitaire ou antitumorale.

On recherche également de nouvelles molécules pour le ciblage spécifique d'une substance biologiquement active vers les cellules présentatrices d'antigènes, telles que les cellules dendritiques, les macrophages, les lymphocytes B ou les monocytes.

En effet, on recherche des nouvelles molécules qui, associées avec une substance biologiquement active telle que des antigènes ou des facteurs de croissance cellulaire, peuvent se fixer spécifiquement sur les cellules présentatrices d'antigènes et/ou être internalisées dans lesdites cellules et ainsi être capable d'exercer une activité thérapeutique modulée par l'intermédiaire des cellules présentatrices d'antigène.

Les scavengers récepteurs sont des protéines exprimées à la surface de nombreuses cellules et en particulier des cellules présentatrices d'antigènes professionnelles que sont les DC et les macrophages (Medzhitov R. et al., *Curr. Opin. Immunol.*, 9, 4-9, 1997, et Lebecque S., *Vaccine*, 25, 1603-1605, 2000). Ils lient notamment les lipoprotéines modifiées chimiquement. Plusieurs familles de scavengers récepteurs ont été identifiées, chaque famille pouvant contenir plusieurs membres. Ils lient un large panel de ligands différents. En particulier, certains scavengers récepteurs sont impliqués dans la réponse antibactérienne et lient des molécules bactériennes telles que le LPS ou l'acide lipotéchoïque. La liaison est suivie par une endocytose de la molécule.

La demande EP 0 783 892 décrit une méthode pour augmenter l'immunogénicité dans laquelle un antigène et un ligand d'un récepteur scavenger sont conjugués à un adjuvant. La demande EP 0 808 899 a pour objet le récepteur scavenger humain Marco et décrit une méthode d'identification de composés qui se lient et qui activent ou inhibent ce récepteur. La demande WO 99/14329 divulgue quant à elle un nouveau récepteur Marco, nommé MCCOL.

La molécule Toll a été initialement décrite comme un récepteur transmembranaire chez la drosophile impliqué dans l'embryogénèse et la réponse antifongique. Une activation via Toll induit une interaction et la stimulation de molécules de signalisation intracellulaire homologue aux facteurs de transcription de NFkB, en aval du récepteur à l'interleukine-1 chez les mammifères. Une famille de récepteurs humains structurellement identiques à la molécule Toll de la drosophile a été identifiée (Bowie A., et al., *J. Leuk. Biol.* 67, 508-514, 2000; Muzion M., et al., *Microbes & infec.*, 2, 251-255, 2000). Cette famille de molécules contient actuellement 6 membres. A l'exception de Tlr 2 et Tlr 4, les ligands ne sont pas connus. L'activation de Tlr 2 et 4 est associée à une activation de NFkB; la production de cytokines proinflammatoires. Les molécules Tlr 2 et 4 jouent un rôle crucial dans la réponse à un signal de danger, en particulier en réponse à des agents étrangers comme les bactéries. De nombreux constituants bactériens, tels que des séquences d'ADN de type CPG ou des constituants de la paroi de type LPS, lipoprotéines ou LTA activent les APC et les cellules de l'innate immunity via les TLR (Rescigno M. et al., *Immunol. today*, 20, 200-203, 1999). En particulier les cellules dendritiques (Muzio M. et al., *J. Immunol.*, 164, 5998-6004,

2000) et les macrophages expriment de nombreux Tlr qui leur permettent de répondre aux agressions microbiennes.

Des récepteurs humains type TOLL sont décrits dans la demande WO 98/50547 qui a encore pour objet des ligands de ces récepteurs. Les demandes WO 99/20756 et
5 WO 00/24776 décrivent également des homologues Humain Toll.

L'OmpA de *Klebsiella pneumoniae*, protéine majeure de la membrane externe (baptisée P40) présente une activité de protéine porteuse, par voie systémique, pour des antigènes sous-unitaires peptidiques (demandes de brevet WO 95/27787 et WO 96/14415 ; Haeuw et al., Eur. J. Biochem., 255, 446-454, 1998 ; Plotnicky-Gilquin et
10 al., J. Virol., 73, 5637-5645, 1999) et polysaccharidiques (demande de brevet WO 97/41888 ; Rauly et al., Infect. Immun., 67, 5547-5551, 1999).

Les HSP (Heat Shock Protein) sont des molécules chaperonnes qui contrôlent le repliement des protéines et évitent leur agrégation; elles sont fortement conservées lors de l'évolution (Feldman, D. E., et al., Curr. Opin. Struct. Biol., 10, 26-33, 2000). De
15 nombreuses études ont démontré que les HSP peuvent être utilisées comme protéines porteuses et favorisent une réponse immune contre des peptides ou des oligosaccharides (Lussow, A.R, et al., Eur. J. Immunol., 21, 2297-2302, 1991). Les HSP n'induisent pas de suppression épitopique (Barrios, C., et al., Eur. J. Immunol., 22, 1365-1372, 1992) et sont efficaces en absence d'adjuvant (Barrios et al., 1992) suggérant que les HSP
20 peuvent être considérées comme des adjuvants en tant que tels (Blachere, N.E., et al., J. Exp. Med., 186, 1315-1322, 1997).

L'utilisation potentielle des HSP en immunothérapie antitumorale est actuellement très étudiée (Srivastava, P.K., et al., Immunity, 8, 657-665, 1998). Les HSP isolées des cellules tumorales engendrent une puissante réponse CTL CD8+
25 protectrice et spécifique de la tumeur (Srivastana, P.K., et al., Immunogenetics, 39, 93-98, 1994 ; Tamura, Y. et al., Science, 278, 117-120, 1997). Cette propriété provient de la capacité des HSP à se lier de façon non covalente à des peptides antigéniques spécifiques des tumeurs (Udono, H., et al., J. Exp. Med., 178, 1391-1396, 1993 ; Tamura, Y., et al., 1997 ; Nieland, T.J., et al., Proc. Natl. Acad. Sci., USA, 93, 6135-
30 6139, 1996). Parmi les différentes HSP testées, gp96 (un homologue endoplasmique de la HSP90) et la HSP70 sont les plus utilisés dans des vaccins anti-tumoraux

prophylactiques ou thérapeutiques contre différents types de tumeurs (Udono, H., et al., J. Immunol., 152, 5398-5403, 1994 ; Tamura et al., 1997).

Il semblerait que la HSP 60 se liait au Tlr4 (Tlr pour « Toll-Like Receptor », récepteur Toll apparenté ou récepteur de type Toll) (Ohashi K., et al., J. Immunol., 5 164:558-561, 2000).

De manière surprenante, il a maintenant été mis en évidence que les OmpA et les HSP se liaient aux récepteurs scavengers. De manière encore plus surprenante, il a aussi été déterminé que ces mêmes molécules étaient en outre signalées via un récepteur Toll.

10 La présente invention a ainsi pour objet un procédé d'identification de nouvelles molécules d'intérêt thérapeutique, caractérisé en ce qu'on sélectionne les molécules qui se lient aux récepteurs scavengers et qui sont signalées via un récepteur Toll.

Ce procédé, et les nouvelles molécules sélectionnées, pourront ainsi répondre aux problèmes mentionnés ci-dessus, à savoir trouver de nouveaux porteurs ou 15 adjuvants permettant d'augmenter ou induire l'immunogénicité notamment de type humorale, de nouveaux composés qui, associés à une molécule, notamment un antigène ou haptène, soient capables de générer une réponse CTL, tout comme de nouveaux composés capables de cibler les cellules présentatrices d'antigènes, de préférence celles exprimant un récepteur scavenger, et notamment les cellules dendritiques de préférence 20 immatures.

Par cellules présentatrices d'antigènes (CPA ou APC), on entendra désigner dans la présente invention, les cellules CPA professionnelles formant partie intégrante du système immunitaire telles que les cellules dendritiques, les macrophages, les lymphocytes B ou les monocytes, notamment les cellules dendritiques immatures.

25 Dans la présente invention, on entendra désigner également par le terme «peptide» les protéines ou les polypeptides, termes qui seront ici employés indifféremment.

Selon l'invention, il est possible d'utiliser tout type de récepteur scavenger, de préférence d'origine humaine, et notamment les récepteurs SR-A1, SR-B1, SR-C1, 30 Marco, LOX, notamment LOX-1, CD36. Les récepteurs décrits dans les demandes EP 0 783 892 et EP 0 808 899 (séquences nucléotidiques SEQ ID No. 1 et SEQ ID No. 5, et

les séquences protéiques SEQ ID No. 2 et SEQ ID No. 6) et WO 99/14329 (séquence nucléotidique SEQ ID No. 2 et séquence protéique SEQ ID No. 1) pourront être utilisés.

Pour les récepteurs LOX, on pourra également se référer aux récepteurs décrits dans les demandes WO 99/32520 (récepteur LOX-1 humain et bovin respectivement de
5 séquence peptidique SEQ ID No. 1 et No. 2, et leur séquence nucléique respective SEQ ID No. 5 et No. 6 dans ce document), WO 96/17058 (et particulièrement les séquences nucléiques et protéiques des récepteurs LOX d'origine bovine et humaine identifiées par les séquences SEQ ID No. 1, SEQ ID No. 2 et SEQ ID No. 3 dans ce document), US 5,510,466 (dont les séquences nucléiques et protéiques sont représentées aux figures 3A
10 à 4D de ce document), US 5,665,872 (et particulièrement la séquence nucléique SEQ ID No. 1 et la séquence protéique SEQ ID No. 3) et US 5,521,071 (et particulièrement la séquence nucléique SEQ ID No. 1 et protéique SEQ ID No. 2) pourront être utilisés, de même que le récepteur LOX, dénommé HORL, dont les séquences nucléique et peptidique sont décrites dans le brevet US 5,945,308.

15 Dans un mode de réalisation préféré de l'invention, le récepteur scavenger utilisé correspond au récepteur Marco, en particulier le récepteur Marco humain dont la séquence de l'ADNc codant pour ce récepteur est décrite dans la banque de données GenBank sous le numéro d'accèsion A.N. NM 006770 (dont les séquences nucléique et protéique sont respectivement représentées par les séquences SEQ ID No. 1 et No. 2
20 dans la liste des séquences ci-après) ou au récepteur LOX-1, en particulier le récepteur LOX-1 humain dont la séquence de l'ADNc codant pour ce récepteur LOX-1 humain est décrite dans la banque de données GenBank sous le numéro d'accèsion A.N. AB 010710 (dont les séquences nucléique et protéique sont respectivement représentées par les séquences SEQ ID No. 3 et No. 4 dans la liste des séquences ci-après).

25 De même, tout type de récepteur Toll peut être utilisé. Ainsi, dans le cadre de la présente invention, le terme "récepteur Toll" désignera la molécule Toll de la drosophile tout comme les récepteurs humains structurellement identiques et notamment les récepteurs Tlr 1, 2, 3, 4, 5 ou 6. Les récepteurs humains type Toll décrits dans les
30 demandes WO 98/50547 (séquences protéiques SEQ ID No. 4, SEQ ID No. 6, SEQ ID No. 26, SEQ ID No. 10, SEQ ID No. 12, SEQ ID No. 16, SEQ ID No. 18, SEQ ID No. 32, SEQ ID No. 22 et SEQ ID No. 34 et leurs séquences nucléiques codantes

correspondantes), WO 99/20756 (SEQ ID No. 1, SEQ ID No. 3, SEQ ID No. 13) et WO 00/24776 pourront être utilisés.

Dans un mode de réalisation préféré de l'invention, le récepteur Toll utilisé correspond au récepteur Tlr 2 ou Tlr 4, en particulier le récepteur Tlr 2 humain dont la
5 séquence de l'ADNc codant pour ce récepteur est décrite dans la banque de données GenBank sous le numéro d'accèsion A.N. U88878 (dont les séquences nucléique et protéique sont respectivement représentées par les séquences SEQ ID No. 5 et No. 6 dans la liste des séquences ci-après) ou Tlr 4 humain dont la séquence de l'ADNc
10 codant pour ce récepteur est décrite dans la banque de données GenBank sous le numéro d'accèsion A.N. U88880 (dont les séquences nucléique et protéique sont respectivement représentées par les séquences SEQ ID No. 7 et No. 8 dans la liste des séquences ci-après).

Selon l'invention, on pourra également utiliser :

- tout récepteur scavanger, de préférence d'origine humaine, notamment les
15 récepteurs SR-A1, SR-B1, SR-C1, Marco, LOX, de préférence LOX-1, CD36 dont les séquences, nucléiques codantes ou d'acides aminés, présentent un pourcentage d'identité d'au moins 80 %, de préférence d'au moins 90 %, 95 % et 99 % avec leur séquence sauvage, notamment les séquences dont il fait référence ci-avant ;

- ou tout fragment de cesdits récepteurs scavengers comprenant le site de
20 fixation à son ou à ses ligands naturels.

Selon l'invention, on pourra également utiliser :

- tout récepteur Toll, notamment les récepteurs humains structuellement identiques et de préférence les récepteurs Tlr 1, 2, 3, 4, 5 ou 6, dont les séquences, nucléiques codantes ou d'acides aminés, présentent un pourcentage d'identité d'au
25 moins 80 %, de préférence d'au moins 90 %, 95 % et 99 % avec leur séquence sauvage, notamment les séquences dont il fait référence ci-avant pour ces récepteurs ;

- ou tout fragment de cesdits récepteurs Toll comprenant le domaine responsable de la médiation du signal d'activation des cellules.

Dans la présente description, par « pourcentage d'identité » entre deux
30 séquences d'acide nucléique ou d'acides aminés au sens de la présente invention, on entend désigner un pourcentage de nucléotides ou de résidus d'acides aminés identiques entre les deux séquences à comparer, obtenu après le meilleur alignement, ce

pourcentage étant purement statistique et les différences entre les deux séquences étant réparties au hasard et sur toute leur longueur. Le meilleur alignement ou alignement optimal est l'alignement pour lequel le pourcentage d'identité entre les deux séquences à comparer, comme calculé ci-après, est le plus élevé. Les comparaisons de séquences entre deux séquences d'acide nucléique ou d'acides aminés sont traditionnellement réalisées en comparant ces séquences après les avoir alignées de manière optimale, ladite comparaison étant réalisée par segment ou par « fenêtre de comparaison » pour identifier et comparer les régions locales de similarité de séquence. L'alignement optimal des séquences pour la comparaison peut être réalisé, outre manuellement, au moyen de l'algorithme d'homologie locale de Smith et Waterman (1981) [Ad. App. Math. 2:482], au moyen de l'algorithme d'homologie locale de Neddleman et Wunsch (1970) [J. Mol. Biol. 48:443], au moyen de la méthode de recherche de similarité de Pearson et Lipman (1988) [Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:2444], au moyen de logiciels informatiques utilisant ces algorithmes (GAP, BESTFIT, FASTA et TFASTA dans le Wisconsin Genetics Software Package, Genetics Computer Group, 575 Science Dr., Madison, WI, ou encore BLASTN ou BLASTX, Altschul et al., J. Mol. Biol. 215,403,1990).

Le pourcentage d'identité entre deux séquences d'acide nucléique ou d'acides aminés est déterminé en comparant ces deux séquences alignées de manière optimale par fenêtre de comparaison dans laquelle la région de la séquence d'acide nucléique ou d'acides aminés à comparer peut comprendre des additions ou des délétions par rapport à la séquence de référence pour un alignement optimal entre ces deux séquences. Le pourcentage d'identité est calculé en déterminant le nombre de positions identiques pour lesquelles le nucléotide ou le résidu d'acide aminé est identique entre les deux séquences, en divisant ce nombre de positions identiques par le nombre total de positions dans la fenêtre de comparaison et en multipliant le résultat obtenu par 100 pour obtenir le pourcentage d'identité entre ces deux séquences.

Les molécules à sélectionner (et, le cas échéant, à identifier si elles sont de structure inconnue ou si lesdites molécules sont sélectionnées à partir d'un mélange de composés connus ou inconnus) peuvent être choisies parmi toutes catégories de molécules naturelles ou synthétiques. Ainsi, l'invention n'est nullement limitée à un type de molécules à sélectionner mais également, et de préférence, permet d'identifier de

nouveaux composés à partir de molécules très diverses, comme par exemple des molécules chimiques ou biologiques, des extraits cellulaires, notamment de bactéries, des extraits de plantes, etc..

On pourra, de façon préférée, tester des extraits membranaires, et plus
5 préférentiellement solubles, de pathogènes (bactéries, parasites, etc.) et de cellules eucaryotes, notamment humaines.

Dans un mode de réalisation de l'invention, le procédé d'identification selon l'invention est caractérisé en ce qu'il comprend les deux étapes distinctes suivantes (étapes réalisées séparément) :

- 10 a) la sélection des molécules qui se lient aux récepteurs scavengers ; et
b) la sélection, parmi les molécules sélectionnées à l'étape a), des molécules qui fournissent un signal d'activation via un récepteur Toll.

De préférence, le procédé d'identification selon l'invention pour l'identification de nouvelles molécules d'intérêt thérapeutique se liant à un récepteur scavenger est
15 caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :

- 1) la mise en contact d'une molécule, ou d'un mélange de molécules, connue ou inconnue à tester avec un récepteur scavenger, dans un milieu permettant la fixation éventuelle d'une molécule testée avec ledit récepteur scavenger ;
2) la mise en évidence de la fixation ou non de ladite molécule testée avec ledit
20 récepteur scavenger ; et
3) la sélection de cette molécule si sa fixation avec ledit récepteur scavenger a été mise en évidence à l'étape 2).

Ledit récepteur scavenger, ou un de ses fragments comprenant son site de fixation spécifique, utilisé à l'étape 1) pourra être isolé ou purifié à partir de culture de
25 cellules exprimant naturellement ce récepteur. De préférence, ledit récepteur scavenger utilisé à l'étape a), ou l'un de ses fragments comprenant son site de fixation spécifique, notamment sa fraction soluble dépourvue de son domaine transmembranaire, sera de nature recombinante, soit isolé et/ou purifié à partir de cultures de cellules hôtes transformées avec un ADN codant pour cedit récepteur, ou soit sous forme de cesdites
30 cellules hôtes exprimant à leur surface ledit récepteur scavenger.

Dans un mode de réalisation préféré, l'invention concerne un procédé d'identification selon l'invention, caractérisé en ce que la sélection des molécules

capables de se lier au récepteur scavenger est réalisée par une méthode choisie parmi les méthodes suivantes :

- une chromatographie d'affinité,
- une identification par FACS des molécules se liant à des cellules transfectées
- 5 par un récepteur scavenger ;
- une technique de type BIACORE ; ou
- un clonage par expression à partir d'une sonde portant un récepteur scavenger, tel qu'un screening en utilisant comme sonde une forme soluble d'un récepteur scavenger, le domaine extracellulaire du récepteur scavenger pouvant être fusionné à
- 10 une chaîne lourde d'immunoglobuline.

La technique dite de chromatographie d'affinité connue de l'homme du métier pourra être réalisée en utilisant des formes recombinantes des récepteurs scavengers, immobilisées sur une résine. Idéalement, les formes recombinantes des récepteurs scavengers, seront composées uniquement des domaines extracellulaires des formes

15 recombinantes des récepteurs scavengers, fusionnées ou non à une séquence Tag (c-myc, His₆, chaîne lourde de l'immunoglobuline γ 1 murine, GST (Glutathion S-Transférase), ...). Les molécules recombinantes pourront être produites en système procaryote ou eucaryote (cellules COS, CHO ou cellules d'insecte). Les molécules recombinantes seront fixées sur une résine adaptée en utilisant des techniques

20 conventionnelles incluant le couplage chimique à une matrice de colonne appropriée telle que l'agarose, Affi Gel, ou d'autres matrices connues de l'homme de l'art. Les molécules à tester décrites ci-dessus telles que des extraits protéiques totaux issus de bactéries, parasites, virus, cellules eucaryotes pourront être incubés avec ces résines sont ensuite déposées sur la colonne. Les molécules interagissant avec ledit récepteur

25 scavenger, sont retenues par la colonne et peuvent être isolées par élution.

L'identification par FACS (« Fluorescence Activated Cells Sorting ») est une technique connue de cytométrie en flux, et permet d'analyser la fixation de la molécule testée sur des transfectants stables exprimant un récepteur scavenger. Les transfectants stables peuvent être générés dans des cellules hôtes qui n'expriment peu ou pas de

30 récepteur scavenger comme les cellules CHO. Pour identifier les molécules ayant la capacité de se fixer aux récepteurs scavengers, il sera possible de créer une banque d'expression. Brièvement, les ADNc ou l'ADN génomique issu de bactéries, parasites,

cellules eucaryotes, etc., seront insérés dans un vecteur d'expression procaryote permettant la production de molécules recombinantes solubles et taggées (marquées) (idéalement, nous choisirons un Tag (ou marqueur) détectable par un anticorps compatible avec un screening par cytofluorométrie). Les molécules recombinantes
5 produites par les clones bactériens seront sélectionnées sur la capacité à se fixer aux transfectants stables exprimant un récepteur scavenger. L'ADN plasmidique pourra ensuite être identifié par séquençage.

Dans d'autres méthodes, les molécules susceptibles d'interagir avec ledit récepteur scavenger, peuvent être liées à des marqueurs détectables tels que des
10 marqueurs radioactifs, fluorescents ou enzymatiques. Ces molécules marquées sont mises en contact avec ledit récepteur scavenger immobilisé, dans des conditions permettant une interaction spécifique. Après élimination des molécules non fixées spécifiquement, les molécules liées sont détectées par des moyens appropriés.

La technologie du BIACORE peut également être utilisée pour effectuer le
15 criblage de composés capables d'interagir avec ledit récepteur scavenger. Cette technologie permet de détecter des interactions entre molécules en temps réel sans utilisation de marquage. Elle est basée sur le phénomène de SPR (surface plasmon resonance). Un des principaux avantages de cette méthode est qu'elle permet la détermination des constantes d'association entre le récepteur et les molécules
20 interagissant. Ainsi, il est possible de sélectionner spécifiquement les molécules interagissant avec de fortes ou de faibles constantes d'association.

Le clonage par expression peut aussi être effectué à partir d'une sonde constituée du domaine extracellulaire du récepteur scavenger, fusionné à un Tag, idéalement une chaîne lourde d'immunoglobuline murine. La détection de cette molécule pourra se faire
25 à l'aide d'un anticorps anti-immunoglobuline murine marquée à un fluor, un fluorochrome (Alexa ou FITC) ou de billes magnétiques coatées avec un anticorps anti-Ig de souris. Les banques d'expression (procaryotique ou eucaryotique) construites avec de l'ADNc ou de l'ADN génomique provenant de bactéries, virus, parasites, cellules eucaryotes, etc., seront screenées à l'aide des formes recombinantes solubles des
30 récepteurs scavengers. Les clones ainsi isolés pourront être identifiés par séquençage.

Par exemple, mais sans s'y limiter, on pourra également mettre en œuvre dans les procédés d'identification selon l'invention une autre méthode d'identification de

molécules capables d'interagir avec ledit récepteur scavenger, utilisant un système de double hybrides bactériens ou levures tel que le Matchmaker Two Hybrid System 2. Selon les instructions du manuel accompagnant le Matchmaker Two Hybrid System 2 (Catalogue N° K1604-1, Clontech), lorsque par exemple les molécules à tester sont des peptides non connus dont les ADNc sont clonés dans des banques de plasmides.

On peut également citer une autre méthode d'identification pour mettre en évidence l'interaction dudit récepteur scavenger, avec des petites molécules telles que celles générées par chimie combinatoire, mettant en œuvre une microdialyse couplée à une HPLC ou une électrophorèse capillaire d'affinité, techniques connues de l'homme de l'art.

Dans un mode de réalisation préféré, le procédé d'identification selon l'invention est caractérisé en ce que ledit récepteur scavenger est choisi parmi les récepteurs SR-A1, SR-B1, SR-C1, Marco, LOX, notamment LOX-1, CD36, de préférence d'origine humaine, et notamment les récepteurs dont les références aux documents et/ou ont été décrits ci-avant, de manière tout à fait préférée, le récepteur scavenger Marco, en particulier celui dont la séquence de l'ADNc codant pour ce récepteur est décrite dans la banque de données GenBank sous le numéro d'accension A.N. NM 006770 ou le récepteur LOX-1, en particulier celui dont la séquence de l'ADNc codant pour ce récepteur LOX-1 humain est décrite dans la banque de données GenBank sous le numéro d'accension A.N. AB 010710, ou les récepteurs dont la séquence peptidique ou nucléique présente au moins un des pourcentages d'identité préférés cités ci-avant, ou leur fragment comprenant le site de fixation de ces récepteurs.

Dans un mode de réalisation préféré, la deuxième étape b) du procédé d'identification selon l'invention comprend une étape d'identification de la molécule Toll associée à la signalisation cellulaire consécutivement à la fixation de la molécule identifiée sur le récepteur scavenger.

De préférence ladite deuxième étape b) comprend les étapes suivantes :

A) la mise en contact de ladite molécule sélectionnée à ladite première étape a) du procédé général en deux étapes avec une cellule exprimant ledit récepteur Toll, de préférence transfectée avec un acide nucléique codant pour ledit récepteur Toll et de préférence en outre avec un acide nucléique codant pour ledit récepteur scavenger ce dernier étant de préférence aussi identique au récepteur scavenger utilisé à l'étape a) ;

B) la mesure d'un marqueur significatif d'une activation cellulaire, de préférence médiée par ledit récepteur Toll, de manière plus préférée la mesure de la production d'une ou de plusieurs cytokines ;

5 C) la sélection de ladite molécule, si la mesure met en évidence la génération ou l'augmentation d'une activité cellulaire, de préférence par rapport à un contrôle témoin, de préférence le contrôle témoin est une cellule n'exprimant pas ledit récepteur Toll, mais pouvant, de préférence, exprimer ledit récepteur scavenger, notamment le récepteur scavenger utilisé à l'étape a).

10 L'activation cellulaire peut être mesurée en évaluant la production de cytokines, l'expression de molécules de surface ou par toute technique connue de l'homme du métier à cet effet. On pourra ainsi notamment utiliser des transfectants stables exprimant conjointement le scavenger récepteur et un des Tlr, qui seront incubés avec la molécule identifiée.

15 Pour ce faire, il est possible d'incuber la molécule testée avec les transfectants et de suivre la production de cytokines (par exemple par ELISA), l'activation du facteur de transcription NF-kB (activation associée à la production de cytokines pro-inflammatoires) ou la modulation d'expression de molécules de surface (par exemple la molécule ICAM-1).

20 Il est aussi possible de mesurer un flux calcique (associé à la signalisation cellulaire) par une technique fluorométrique.

Les cellules transfectées sont obtenues à partir de cellules couramment utilisées à cet effet, telles que les cellules CHO, Cos ou HEK 293. Elles peuvent être transfectées de façon stable ou transitoire.

25 Dans un mode de réalisation préféré, le procédé d'identification selon l'invention est caractérisé en ce que ledit récepteur Toll est choisi parmi les récepteurs Toll apparentés Tlr 1, 2, 3, 4, 5 et 6, de préférence d'origine humaine, et notamment les récepteurs dont les références aux documents et/ou ont été décrits ci-avant, de manière tout à fait préférée le récepteur Tlr 2, en particulier celui dont la séquence de l'ADNc codant pour ce récepteur est décrite dans la banque de données GenBank sous le numéro
30 d'accèsion A.N. U88878 ou le récepteur Tlr 4, en particulier celui dont la séquence de l'ADNc codant pour ce récepteur humain est décrite dans la banque de données GenBank sous le numéro d'accèsion A.N. U8888, ou les récepteurs dont la séquence

peptidique ou nucléique présente au moins un des pourcentages d'identité préférés cités ci-avant, ou leur fragment Toll comprenant le domaine responsable de la médiation du signal d'activation des cellules.

5 Sous un autre aspect de l'invention, le procédé d'identification selon l'invention est, caractérisé en ce qu'il est mis en oeuvre en une seule étape α).

 Dans un mode de réalisation préféré, le procédé d'identification selon l'invention est caractérisé en ce que l'unique étape α) met en oeuvre une cellule cotransfectée par un récepteur scavenger et un récepteur Toll.

10 Dans un mode de réalisation préféré de l'invention, cette seule étape met en oeuvre une cellule cotransfectée par un récepteur scavenger et un récepteur Toll à l'aide d'un vecteur d'expression eucaryotique permettant l'expression concomitante et à des niveaux équivalents des deux molécules recombinantes.

 Dans un mode de réalisation préféré, le procédé d'identification selon l'invention est caractérisé en ce que l'unique étape α) met en oeuvre une cellule
15 cotransfectée par un récepteur scavenger et un récepteur Toll.

 Dans un mode de réalisation préféré, le procédé d'identification selon l'invention est caractérisé en ce que l'étape α) comprend les étapes suivantes :

20 X) la mise en contact d'une molécule, ou d'un mélange de molécules, connue ou inconnue, à tester avec une cellule hôte cotransfectée avec un acide nucléique codant pour un récepteur scavenger et un acide nucléique codant pour un récepteur Toll, dans un milieu permettant la fixation éventuelle de la ou desdites molécules testées avec ledit récepteur scavenger et/ou l'activation cellulaire éventuelle de ladite cellule médiée par ledit récepteur Toll ;

25 Y) la mise en évidence de l'activation cellulaire de ladite cellule médiée par ledit récepteur Toll par la mesure d'au moins un marqueur significatif d'une activation cellulaire, de préférence médiée par ledit récepteur Toll ; et

 Z) la sélection de cette molécule si ladite mesure à l'étape Y) met en évidence la génération ou l'augmentation de ladite activité cellulaire mesurée, de préférence par rapport à un contrôle témoin.

30 Dans un mode de réalisation préféré, le procédé d'identification selon l'invention est caractérisé en ce que lesdits récepteurs Toll et scavengers, lesdits

marqueurs de mesure d'activité cellulaire utilisés sont de préférence ceux indiquées pour le procédé en deux étapes tels que décrits ci-avant.

Dans un mode de réalisation préféré, le procédé d'identification en une étape ou en deux étapes selon l'invention est caractérisé en ce qu'il comprend en outre une étape
5 d'identification de la structure de la molécule sélectionnée si celle-ci n'est pas connue.

En effet, il sera possible d'utiliser dans les procédés selon la présente invention, une molécule à tester, prise de manière isolée et dont la structure n'est pas connue, ou un mélange de molécules à tester connues ou inconnues, dont les étapes du procédé ci-avant décrit permettront seulement d'identifier leur capacité fonctionnelle. Ladite étape
10 d'identification de la structure aura pour objectif d'identifier la structure de la molécule inconnue ayant cette capacité, ou d'identifier parmi l'ensemble des molécules connues testées simultanément celle(s) présentant cette capacité.

Par exemple, de telles molécules à tester, seules ou en mélange, pourront être issues de synthèse chimique par chimie combinatoire, de banques de clones
15 d'expression de peptides ou d'extraits naturels contenant des mélanges complexes.

Les molécules sélectionnées pourront ensuite être analysées, si nécessaire, par toute méthode d'analyse permettant de définir la structure d'un composé chimique ou biochimique connue de l'homme de l'art telle que, sans s'y limiter, par spectrométrie de masse, HPLC, infrarouges et/ou par RMN (Résonance Magnétique Nucléaire).

20 Dans un mode de réalisation préféré, l'invention concerne un procédé d'identification en une ou deux étapes selon l'invention, caractérisé en ce qu'il comprend en outre une étape de détermination de la capacité de ladite molécule ainsi identifiée d'être immunogène.

Dans ce mode préféré de réalisation de l'invention, après avoir réalisé le procédé
25 selon l'invention, on effectue une étape supplémentaire consistant à analyser ou évaluer l'immunogénicité de la molécule sélectionnée.

Pour ce faire, on peut coupler un haptène (par exemple le TNP (Trinitrophényl)) ou antigène tel qu'un oligosaccharide, un lipide ou un peptide à la molécule identifiée. Des souris sont ensuite injectées par voie intra péritonéale ou sous-cutanée selon des
30 protocoles connus de l'homme de métier. La production d'Ac anti-haptène, -oligosaccharide, -lipide ou -peptide est analysée par ELISA.

On pourra également évaluer la capacité de ladite molécule sélectionnée à générer et/ou à augmenter la réponse immune de type CTL par mesure de l'activité cytotoxique de cellules effectrices de type lymphocyte générées après immunisation avec ladite molécule sélectionnée, la mesure du pourcentage de lyse de cellules co-
5 incubées avec lesdites cellules effectrices étant par exemple évaluée par le taux de relargage de ^{51}Cr comme décrit par exemple, mais sans s'y limiter, dans la demande de brevet WO 00/48628 ou WO 00/48629 aux exemples 4 et 5.

Dans un mode de réalisation préféré, l'invention concerne un procédé d'identification selon l'invention, caractérisé pour l'identification de nouvelles HSP, de
10 nouvelles Omp ou leurs analogues.

Par analogue d'HSP ou d'OmpA (« Outer Membrane Protéine de type A »), on entend désigner ici des composés capables d'exercer au moins l'une des fonctions d'adjuvant de l'immunité, et/ou de protéine porteuse favorisant une réponse immune efficace contre des peptides ou des oligosaccharides, notamment en absence d'adjuvant,
15 notamment une réponse de type CTL, telle que décrite ci-avant dans le paragraphe concernant les HSP ou les OmpA.

Dans un mode de réalisation préféré, l'invention concerne un procédé d'identification selon l'invention, pour :

- l'identification en particulier de nouveaux adjuvants de l'immunité ; et/ou
- 20 - l'identification de molécule capable de cibler un composé tel qu'une substance à activité biologique, notamment un antigène ou haptène, qui lui est associé, de préférence par couplage covalent ou par affinité, vers une cellule exprimant ledit récepteur scavenger et dont l'activité cellulaire est médiée par un récepteur Toll apparentée, ledit composé associé à la molécule étant de préférence internalisée dans la
25 cellule ciblée ; et/ou
- l'identification de molécule destinée à moduler l'activité biologique de composé (ou substance) qui lui est associé par l'intermédiaire des cellules exprimant ledit récepteur scavenger et dont l'activité cellulaire est médiée par un récepteur Toll apparentée, notamment les cellules présentatrices d'antigène comme les cellules
30 dendritiques immatures ; et/ou
- l'identification de molécule destinée à générer ou accroître une réponse immunitaire contre un antigène ou haptène qui lui est associé ; et/ou

- l'identification de molécule destinée à générer ou accroître une réponse immunitaire de type T cytotoxique ; et/ou

- l'identification de molécule destinée à générer ou accroître une réponse immunitaire contre un agent infectieux ou une cellule tumorale.

5 Un objet de l'invention concerne également de nouvelles molécules susceptibles d'être obtenues par la mise en œuvre de la méthode selon l'invention, telle que décrite ci-dessus. Ces nouvelles molécules susceptibles d'être obtenues par la mise en œuvre de la méthode selon l'invention n'englobent pas les ligands connus à ce jour qui seraient susceptibles de se lier aux récepteurs scavenger et signalées via un récepteur Toll tels
10 que les HSP, les lipoprotéines telles que les OspA, l'OmpA de *Klebsiella pneumoniae* et le pEA (*pseudomonas* Exotoxin A).

Ainsi, la méthode selon l'invention pourra notamment être utilisée pour identifier de nouvelles HSP ou de nouvelles Omp.

Ces nouvelles molécules ainsi identifiées pourront être utilisées de la même
15 façon que les HSP ou les Omp, notamment l'OmpA de *Klebsiella pneumoniae* dénommé P40 dont l'utilisation comme protéine adjuvante et/ou porteuse pour induire ou augmenter la réponse immune de type humoral ou CTL a été décrite en particulier dans de nombreux brevets et ainsi bien connue de l'homme de l'art, et de façon tout à fait particulière lorsque ladite P40 est associée à un antigène tumoral ou issu d'un agent
20 infectieux.

L'invention a encore pour objet une composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle comprend dans un milieu pharmaceutiquement acceptable au moins une molécule se liant aux récepteurs scavenger et signalée via un récepteur Toll, et préférentiellement au moins une nouvelle molécule susceptible d'être obtenue par la
25 mise en œuvre de la méthode selon l'invention.

De préférence, ces molécules utilisées dans une composition pharmaceutique sont différentes des HSP, des lipoprotéines telles que les OspA, de l'OmpA de *Klebsiella pneumoniae* et du pEA.

L'invention a également pour objet la composition selon l'invention,
30 caractérisée en ce que ladite composition pharmaceutique comprend en outre, un antigène, immunogène ou haptène.

Par « immunogène, antigène ou haptène », on entend notamment désigner tout composé exprimé par un agent infectieux, tel un virus, une bactérie, une levure, un champignon ou un parasite, par une cellule tumorale, ou un de leurs analogues structuraux, qui seul ou en association avec un adjuvant ou porteur est capable d'induire
5 une réponse immunitaire spécifique dudit agent infectieux ou de ladite cellule tumorale.

On entend également désigner par "immunogène, antigène ou haptène" dans la présente description un composé présentant une analogie structurale avec ledit antigène ou haptène capable d'induire une réponse immunologique dirigée contre ledit antigène ou haptène dans un organisme préalablement immunisé avec ledit composé analogue.

10 Ledit antigène ou haptène peut notamment être choisi parmi les protéines, les glycopeptides, les lipopeptides, les polysaccharides, les oligosaccharides, les acides nucléiques et les lipides.

Dans une forme de réalisation de l'invention, ledit antigène, immunogène ou haptène dérive d'un virus, d'une bactérie, d'un parasite ou d'un champignon.

15 Dans un mode de réalisation préféré de l'invention, ledit antigène, immunogène ou haptène comprend au moins un peptide dérivé de micro-organisme responsable de pathologies des voies aériennes choisi parmi le VRS, le para influenza virus (PIV), l'influenza virus, les hantavirus, les streptocoques, les pneumocoques, haemophilus influenza type b, les rhinovirus, les coronavirus et les méningocoques.

20 L'antigène, immunogène ou haptène peut être associé ou spécifique d'une cellule tumorale.

Parmi les cancers dont les tumeurs expriment un antigène tumoral associé pouvant être prévenus ou traités par les utilisations selon la présente invention, on peut citer en particulier, mais sans s'y limiter :

25 * le cancer du sein, du poumon, du colon, et le carcinome gastrique (Kawashima et al., Cancer Res., 59:431-5, 1999) ;

* le mésothéliome, l'ostéosarcome, les cancers du cerveau (Xie et al., J. Natl. Cancer. Inst., 91:169-75, 1999) ;

* le mélanome (Zheuten et al., Bratisl. Lek. Listy, 99:426-34, 1998) ;

30 * l'adénome cystique du pancréas (Hammel et al., Eur. J. gastroenterol. Hepatol., 10:345-8, 1998) ;

* le cancer colorectal (Ogura et al., Anticancer Res., 18:3669-75, 1998) ;

* le carcinome des cellules rénales (Jantzer et al., Cancer Res., 58:3078-86, 1998); et

* le cancer de l'ovaire et du cervix (Sonoda et al., Cancer., 77:1501-9, 1996).

Les compositions selon l'invention peuvent contenir en outre un adjuvant. Ce
5 dernier peut notamment être choisi parmi le MPL-A, le Quil-A, l'ISCOM, le Diméthyl
Diocadécyl Ammonium sous forme de bromure (DDAB) ou de chlorure (DDAC), les
CpG, la Leif, la CT (Toxoïde du choléra), la LT (Heat Labil Toxine) et les versions
détoxifiées de la CT ou la LT.

Dans un mode de réalisation préféré de l'invention, la composition
10 pharmaceutique selon l'invention ne contient pas d'adjuvant autre que la molécule se
liant aux récepteurs scavengers et signalée via un récepteur Toll, et notamment aucun
autre adjuvant permettant d'induire ou d'augmenter l'immunogénicité ou une réponse
CTL.

Au sens de la présente invention, le milieu pharmaceutiquement acceptable est le
15 milieu dans lequel les composés de l'invention sont administrés, préférentiellement un
milieu injectable chez l'homme. Il peut être constitué d'eau, d'une solution aqueuse
saline ou d'une solution aqueuse à base de dextrose et/ou de glycérol.

L'invention comprend également une composition selon l'invention, caractérisée
en ce que ladite composition pharmaceutique est véhiculée sous une forme permettant
20 d'améliorer sa stabilité et/ou son immunogénicité ; ainsi, elle peut être véhiculée sous
forme de liposomes, virosomes, nanosphères, microsphères ou microcapsules.

L'utilisation d'une molécule se liant aux récepteurs scavengers et signalée via un
récepteur Toll, et préférentiellement d'une nouvelle molécule susceptible d'être obtenue
par la mise en œuvre de la méthode selon l'invention comme porteur et/ou adjuvant dans
25 un vaccin constitue un autre objet de l'invention.

De préférence, ces molécules utilisées comme porteur et/ou adjuvant dans un
vaccin sont différentes des HSP, des lipoprotéines telles que les OspA, de l'OmpA de
Klebsiella pneumoniae et du pEA.

L'invention concerne encore l'utilisation d'une molécule se liant aux récepteurs
30 scavengers et signalée via un récepteur Toll, et préférentiellement d'une nouvelle
molécule susceptible d'être obtenue par la mise en œuvre de la méthode selon
l'invention, pour la préparation d'un vaccin destiné au traitement prophylactique ou

thérapeutique des infections virales, bactériennes, parasitaires ou fongiques ou pour la préparation d'un vaccin destiné au traitement prophylactique ou thérapeutique des cancers.

De préférence, ces molécules utilisées pour la préparation d'un vaccin destiné au traitement prophylactique ou thérapeutique des infections virales, bactériennes, parasitaires ou fongiques ou pour la préparation d'un vaccin destiné au traitement prophylactique ou thérapeutique des cancers sont différentes des HSP, des lipoprotéines telles que les OspA, de l'OmpA de *Klebsiella pneumoniae* et du pEA.

L'invention a encore pour objet l'utilisation d'une molécule se liant aux récepteurs scavengers et signalée via un récepteur Toll, et préférentiellement d'une nouvelle molécule susceptible d'être obtenue par la mise en œuvre de la méthode selon l'invention, pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à générer ou accroître une réponse immunitaire contre un agent infectieux ou une cellule tumorale.

De préférence, ces molécules utilisées pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à générer ou accroître une réponse immunitaire contre un agent infectieux ou une cellule tumorale sont différentes des HSP, des lipoprotéines telles que les OspA, de l'OmpA de *Klebsiella pneumoniae* et du pEA.

La présente invention est aussi relative à l'utilisation d'une molécule se liant aux récepteurs scavengers et signalée via un récepteur Toll, et préférentiellement d'une nouvelle molécule susceptible d'être obtenue par la mise en œuvre de la méthode selon l'invention, pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à générer ou à accroître une réponse T cytotoxique contre un agent infectieux ou une cellule tumorale. On pourra utiliser de telles compositions en thérapies ex vivo ou in vivo.

De préférence, ces molécules utilisées pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à générer ou à accroître une réponse T cytotoxique contre un agent infectieux ou une cellule tumorale sont différentes des HSP, des lipoprotéines telles que les OspA, de l'OmpA de *Klebsiella pneumoniae* et du pEA.

L'invention concerne encore l'utilisation d'une molécule se liant aux récepteurs scavengers et signalée via un récepteur Toll, et préférentiellement d'une nouvelle molécule susceptible d'être obtenue par la mise en œuvre de la méthode selon l'invention, pour le ciblage spécifique d'une substance biologiquement active qui lui est associée vers les cellules présentatrices d'antigènes.

De préférence, ces molécules utilisées pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à générer ou à accroître une réponse T cytotoxique contre un agent infectieux ou une cellule tumorale sont différentes des HSP, des lipoprotéines telles que les OspA (« Outer Surface Protein »), de l'OmpA de *Klebsiella pneumoniae* et du pEA.

Dans l'utilisation selon l'invention, la nouvelle molécule peut se fixer spécifiquement sur les cellules présentatrices d'antigènes et/ou être internalisée dans lesdites cellules.

Par cellules présentatrices d'antigènes ou APC, on entend désigner dans la présente invention, les APC professionnelles formant partie intégrante du système immunitaire telles que les cellules dendritiques, les macrophages, les lymphocytes B ou les monocytes. De préférence, l'invention concerne l'utilisation pour le ciblage vers les cellules dendritiques.

Par substance biologiquement active, on entend désigner tout composé capable d'exercer une activité thérapeutique et dont l'activité peut être modulée par l'intermédiaire des cellules APC. Comme exemple de telles substances biologiquement actives, on peut citer sans s'y limiter les composés immunogènes tels que des antigènes ou haptènes de nature protéique, poly ou oligosaccharidique, glycoprotéique ou lipoprotéique.

Par substance biologiquement active, on entend encore désigner tout composé capable de modifier l'activité fonctionnelle des cellules APC, en particulier leur croissance, leur différenciation ou leur système d'expression. On peut citer comme exemple de tels composés, sans s'y limiter, les facteurs de croissance cellulaire dont les cytokines (IL-4, IL-3, GM-CSF, TNF-alpha).

Ainsi, la substance biologiquement active peut être choisie parmi les protéines ou les peptides, les lipopeptides, les poly- ou oligosaccharides, les acides nucléiques, les lipides et, de manière générale, parmi l'ensemble des substances chimiques.

Enfin, la présente invention a pour objet l'ensemble des utilisations selon la présente invention caractérisées en ce que ladite molécule capable de se lier aux récepteurs scavengers et/ou signalée via un récepteur Toll, et, le cas échéant, capable d'être internalisée après ladite fixation dans une cellule présentatrice d'antigène, est identifiée par un procédé en une ou deux étapes selon la présente invention.

Les légendes des figures et exemples qui suivent sont destinés à illustrer l'invention sans aucunement en limiter la portée.

Légende des figures :

5 La figure 1 correspond au profil obtenu par analyse au FACSavantage cytofluoromètre et démontre que des cellules CHO transfectées avec MARCO lient P40 de façon plus importante que des cellules transfectées avec CD83 utilisées comme contrôle négatif ou des cellules CHO non transfectées.

10 La figure 2 correspond à la quantification en IL-8 de cellules 293 et démontre la capacité des cellules 293 lorsqu'elles sont transfectées par Tlr2 ou Tlr4 à répondre aux OmpA.

Exemple 1 : Les Omp se lient à un récepteur scavenger

A. Génération des transfectants MARCO :

15 L'ADNc codant pour le récepteur scavenger MARCO (séquence identifiée dans la banque de données GenBank sous le Numéro d'accèsion A.N. NM006770, SEQ ID No. 1 de la liste des séquences ci-après) a été cloné dans un vecteur d'expression pEBS/PL contenant une séquence codant pour une protéine C accolée à la séquence insérée. Des cellules CHO (ATCC, Manassas, VA) ont été transfectées en utilisant la
20 technique Effecten (Qiagen, Courtaboeuf, France) et cultivées dans un milieu DMEM supplémenté avec 10 % de FCS et sélectionnées à l'aide de l'hygromycine (commercialisés par Life Technologies). Après cette étape de clonage, les cellules exprimant MARCO ont été sélectionnées en se basant sur l'expression de la protéine C utilisée comme marqueur, déterminée par Western blotting. Les cellules ont été lysées
25 dans 10 mM de tampon phosphate pH 7.4 contenant 0,5 % de Nonidet P40 (Sigma) et des inhibiteurs de protéases (Boehringer Mannheim). Les protéines de 5×10^6 cellules ont été séparées par électrophorèse sur un gel à 10 % de polyacrylamide gel dans des conditions non réductrices, puis transférées sur une membrane de nitrocellulose (commercialisée par Biorad, Ivry sur Seine, France). Après saturation, les membranes
30 ont été incubées en présence d'anticorps monoclonaux anti-protéine C (Roche Diagnostics, Meylan, France). Après lavage, les membranes ont été incubées avec des anticorps anti-immunoglobuline de souris marqués à la peroxydase (Dako, Glostrup,

Denmark) ; les anticorps fixés ont été détectés en utilisant le système ECL (Amersham Pharmacia Biotech, Uppsala, Sweden).

B. Etude de la fixation de P40 au FACS :

Les macrophages ainsi générés sont incubés dans du tampon FACS (RPMI
5 contenant 0,1 % de sérum albumine bovine) à 2×10^5 cellules par puits de 96 fonds pointus pendant 20 minutes en présence de différentes concentrations de P40 marqué avec de l'Alexa⁴⁸⁸ ou avec de la glycophorine A marquée par de l'Alexa⁴⁸⁸. Le marquage à l'Alexa⁴⁸⁸ est réalisé comme décrit par le commerçant (Molecular Probes). Les cellules sont alors lavées en tampon FACS et analysées en utilisant un
10 FACSvantage cytofluoromètre.

C. Résultats :

Les résultats décrits dans la figure 1 montrent que des cellules CHO transfectées avec MARCO lient P40 de façon plus importante que des cellules transfectées avec CD83 utilisées comme contrôle négatif ou des cellules CHO non transfectées.

15 Exemple 2 : Les Omp sont internalisés par un récepteur scavenger

L'internalisation de P40 a été étudiée par microscopie confocale. Les macrophages humains sont incubés dans du tampon FACS (RPMI contenant 0,1 % de sérum albumine bovine) à 2×10^5 cellules par puits de 96 fonds pointus pendant 20 minutes en présence de 0.5 mM P40 marqué avec de l'Alexa⁴⁸⁸, lavés puis incubés ou
20 non à 37°C. Les macrophages sont finalement cytopsinés et observés avec un microscope confocal en utilisant un microscope inversé LSM510 commercialisé par Zeiss muni d'un objectif apochromat plan 63 X. Dans certaines expériences, 150 mM de diméthyl amiloride (DMA) ont été ajoutés 10 minutes avant ajout de P40 ainsi que dans le tampon FACS utilisé. La fluorescence de l'alex⁴⁸⁸ a été mesurée avec un filtre 530-
25 30 nm après excitation avec un laser à ion argon à 488 nm.

Exemple 3 : Les Omp stimulent les cellules via un récepteur Toll

A. Génération des transfectants Tlr

L'ADNc de Tlr 2, Tlr 4 et CD14 (séquences respectivement identifiées dans la banque de données GenBank sous les numéros d'accension A.N. U88878, U88880 et
30 M86511, et dont leur séquence nucléique est respectivement représentée par les séquences SEQ ID No. 5, No. 7 et No. 9 dans la liste des séquences ci-après) a été cloné

dans le vecteur pCDNA3.1 (Invitrogen, Groningen, Hollande), par la suite utilisé pour transfecter des cellules 293 (ATCC) par lipofection tel que décrit ci-dessus.

B. Stimulation of Tlr-transfected cells

48 h après la transfection, les cellules ont été lavées et cultivées dans du milieu sans FCS, RPMI 1640 pendant 12 h. Après remplacement du milieu, les cellules ont été soit non stimulées, soit stimulées pendant 6 h avec 0.5 mM d'OmpA, 0.5 mM de BB ou 100 pg ml⁻¹ de LPS. L'IL-8 a ensuite été quantifiée par ELISA (R&D Systems) dans le surnageant obtenu après les 6 h.

C. Résultats

Comme décrit dans la figure 2, les cellules 293 lorsqu'elles sont transfectées par Tlr 2 acquièrent la capacité de répondre aux OmpA. L'effet des OmpA ne requiert pas la présence de CD14 comme c'est parfois le cas pour des lipoprotéines ou le LPS qui activent également les cellules via Tlr 4.

Exemple 4 : Les HSP se lient à un récepteur scavanger

A. Génération des CD

Génération in vitro de cellules dendritiques humaines immatures.

Les cellules dendritiques humaines sont générées à partir de monocytes isolés du sang périphérique. Le sang est prélevé par leucophérèse en présence d'anticoagulant comme par exemple l'héparinate de lithium. Les cellules mononucléées (CMN) sont isolées de sujets sains par centrifugation sur un gradient de Ficoll-Hypaque (densité=1,077) (Amersham Pharmacia Biotech, Uppsala, Suède). Les cellules du sang sont centrifugées à 1500 rpm pendant 30 minutes à température ambiante. Les CMN, localisées à l'interface Ficoll-plasma, sont récupérées et lavées deux fois en présence de milieu RPMI 1640 (Life technologies, Cergy Pontoise, France). Les monocytes sont purifiés par sélection positive en utilisant un séparateur magnétique de cellules (MACS™ ; Miltenyi Biotex, Bergisch Gladbach, Allemagne) en accord avec les instructions du fabricant. Les CMN sont incubées pendant 20 minutes à 4°C avec des billes magnétiques sur lesquelles sont fixées un anticorps monoclonal anti-CD14 humain. Après lavage, la suspension cellulaire plus billes est déposée sur une colonne et soumise à un champ magnétique. Après trois lavages, la colonne n'est plus soumise au champ magnétique et les monocytes sont collectés par gravitation. La pureté des monocytes est évaluée par cytofluorométrie (cytofluoromètre FACScan ; Becton

Dickinson, Erembodegem, Belgique) sur la base des paramètres taille-granulosité des cellules. La pureté est supérieure à 98 %. Les monocytes sont ensuite mis en culture à la concentration de 5×10^6 cellules/ml dans le milieu suivant (dénommé par la suite milieu de culture complet) : milieu RPMI 1640 supplémenté de 10 % de sérum de veau foetal (chauffage à 56°C pendant 30 minutes), 2 mM de L-glutamine, 50 U/ml de pénicilline et 50 ug/ml de streptomycine (Life technologies) dans des plaques de culture 6 puits (Nunc, Roskilde, Danemark) à raison de 5 ml de milieu par puits. Les cellules sont activées avec 20 ng/ml d'IL-4 humaine recombinante et 20 ng/ml de GM-CSF humaine recombinante (R&D Systems, Abingdon, Royaume Uni). Après 6 jours de culture (37°C, 5 % CO₂ en atmosphère humide), le phénotype des cellules est défini par cytofluorométrie.

B. Analyse par FACS

Les cellules sont lavées dans du tampon FACS puis réparties dans des puits d'une plaque de culture 96 puits à fond conique à raison de 2×10^5 cellules dans un volume de 50 µl de tampon FACS. Puis les cellules sont incubées 10 min dans du tampon FACS en absence ou en présence de 100 µg/ml de sérum albumine bovine (SAB) ou de SAB maleylé. Après 10 min 10 µg/ml de HSP70 marqué à la biotine sont ajoutés. Après 20 min à 4°C, les cellules sont lavées et incubées avec de l'avidine marquée FITC.

C. Résultats

La SAB maleylé inhibe la fixation des HSP70 aux DC alors que la SAB non maleylé n'a aucun effet. Cela indique que les HSP se lient à un récepteur scavenger.

Exemple 5 : Méthode d'identification de nouvelles molécules en deux étapes

La méthodologie décrite ci-dessous permet l'identification en deux étapes de molécules se liant à un SR et signalant via une molécule Tlr :

- la première étape est une sélection des molécules ciblant un SR,
- la deuxième étape sélectionne parmi ces molécules celles signalant via une molécule Tlr.

Dans l'exemple, nous présenterons une méthode d'identification de molécules d'origine bactérienne à l'aide d'une banque d'expression. Cette méthodologie est applicable à l'identification de molécules exprimées par n'importe quel organisme

multicellulaire en utilisant des banques d'expression procaryotiques ou eucaryotiques et contenant soit des ADNc, soit de l'ADN génomique.

Génération de clones stables exprimant des SR.

Les ADNc codant pour les SR identifiés jusqu'à maintenant sont intégrés dans
5 un vecteur d'expression eucaryotique en aval d'une séquence codant pour un peptide signal (permettant de produire des molécules recombinantes solubles). Les cellules CHO sont transfectées par lipofection puis mises en culture avec un agent de sélection, comme par exemple l'hygromycine. La sélection de clones exprimant le transgène pourra se faire de différentes manières en fonction des sondes disponibles :

10 - utilisation d'un anticorps monoclonal, couplé ou non à une molécule fluorescente,

- utilisation de DiI-Ac-LDL fluorescent [une molécule étant définie comme un SR lorsqu'elle fixe les LDL modifiés comme les LDL oxydés ou les LDL acétylés, respectivement Ox-LDL et Ac-LDL],

15 - sélection de transfectants exprimant de manière contemporaine le SR et une molécule comme l'EGFP (Enhanced Green Fluorescent Protein). Dans ce cas, l'expression des deux molécules recombinantes (EGFP et SR) est sous le contrôle d'un même promoteur ; les ADNc sont séparés par une séquence IRES qui permet la synthèse de deux protéines à partir d'un seul ARNm. Dans ce cas, toute cellule
20 exprimant la EGFP exprime de manière contemporaine le SR.

Les clones exprimant le plus fortement le SR recombinant seront sélectionnés par cytofluorométrie (utilisation d'un trieur de cellules), par exemple. Les transfectants seront maintenus en culture en présence de l'agent de sélection.

Création de la banque d'expression.

25 L'ADN génomique bactérien est cassé mécaniquement afin d'obtenir des fragments d'une taille d'environ 1 kb. Les fragments d'ADN sont ensuite intégrés dans un vecteur d'expression présentant un double promoteur procaryote/eucaryote. Ce plasmide présente au moins les caractéristiques suivantes : une séquence codant pour un peptide signal en amont de l'ADN exogène et une séquence codant pour un Tag en aval
30 de l'ADN exogène. Le Tag sera choisi sur la base de l'existence d'anticorps monoclonaux dirigés contre cette séquence Tag.

Après transformation avec les plasmides contenant les fragments d'ADN génomique, les bactéries contenant un ADN plasmidique sont sélectionnées (utilisation d'une résistance à un antibiotique exprimée par le plasmide) puis clonées. Les cellules eucaryotes (comme par exemple les cellules CHO ou HEK-293) seront transfectées par électroporation ou lipofection avec 10 plasmides (n=10). 24 heures après la transfection, le milieu de culture est changé et les cellules sont maintenues en culture dans un milieu sans FCS ni acides gras. Les surnageants sont ensuite collectés après 48 h de culture et concentrés. La production de protéines recombinantes solubles pourra être évaluée aisément par Dot-blotting.

10 Identification des clones produisant une molécule se fixant à un SR.

Les surnageants de culture contenant les molécules recombinantes solubles sont incubés avec les différents clones stables exprimant les SR. Après lavage, les cellules sont incubées avec un anticorps fluorescent dirigé contre la séquence Tag choisie. La fluorescence sera ensuite analysée par cytofluorométrie. Après identification des groupes produisant une molécule soluble dirigée contre un SR, chacun des plasmides contenus dans le groupe de 10 clones sera analysé individuellement afin d'identifier celui produisant la molécule d'intérêt. La spécificité de fixation au SR sera évaluée contre tous les autres SR. La nature de la protéine sera ensuite déterminée par séquençage du fragment d'ADN génomique.

20 Production de la molécule recombinante.

Dans le cas où la séquence présente dans le plasmide code pour la protéine entière, nous analyserons directement quelle molécule Tlr est impliquée dans la signalisation. Si ce n'est pas le cas, le gène sera cloné en entier (détermination du cadre de lecture complet). Ceci pourra se faire de différentes manières :

25 - si la séquence issue de la souche choisie est connue dans la littérature, la séquence complète sera amplifiée par PCR à l'aide de sondes oligonucléotidiques spécifiques,

- si la séquence issue de la souche choisie n'est pas connue mais homologue à un gène déjà identifié dans une autre souche, la séquence complète sera amplifiée par PCR à l'aide de sondes oligonucléotidiques dégénérées,

30 - si la séquence n'est pas connue dans les banques de données publiques, la séquence complète sera identifiée par séquençage de l'ADN génomique.

La séquence complète sera insérée dans un vecteur d'expression procaryotique en aval d'une séquence codant un Tag contre lequel des anticorps monoclonaux sont disponibles. Après sélection d'un clone produisant de manière élevée la protéine, la protéine sera produite selon des techniques connues d'homme de métier et purifiée par immunoprécipitation à l'aide d'un anticorps anti-Tag immobilisé sur une résine. La capacité de la molécule recombinante purifiée à se fixer au SR sera réévaluée par cytofluorométrie comme décrit ci-dessus.

Identification de la molécule Tlr associée à la signalisation via le SR.

Les ADNc codant pour les molécules Tlr 1 à Tlr 6 humaines seront clonés par PCR et insérés dans un vecteur d'expression contenant une séquence codant pour une séquence Tag, en l'occurrence la séquence FLAGTM (Sigma, St Louis, MO) de telle manière que la séquence FLAG soit exprimée à l'extrémité du domaine extracellulaire. Les transfectants stables exprimant le SR d'intérêt seront transfectés avec chacun des plasmides codant pour les Tlr. L'expression du Tlr sera évaluée par cytofluorométrie en utilisant en anticorps anti-FLAG. Les transfectants seront ensuite mis en culture en présence de la molécule recombinante d'intérêt. L'activation des cellules transfectées sera évaluée par la néosynthèse de médiateurs solubles aisément quantifiables par ELISA, comme par exemple l'interleukine-8 ou le TNFalpha.

Exemple 6 : Méthode en une étape

Dans ce cas, la sélection des molécules d'intérêt se fait sur des transfectants exprimant conjointement un SR et une molécule Tlr. Les banques d'ADNc ou d'ADN génomique ainsi que la production des protéines recombinantes solubles ont été décrites ci-dessus.

Deux approches sont possibles pour générer les transfectants exprimant de manière contemporaine un SR et une molécule Tlr :

- les cellules sont transfectées par électroporation ou lipofection avec deux vecteurs, l'un codant pour le SR et l'autre pour la molécule SR ; dans ce cas, on choisira deux plasmides chacun codant pour une protéine de résistance à une drogue différente,
- les cellules sont transfectées par électroporation ou lipofection avec un vecteur contenant les deux séquences d'intérêt séparées par une séquence IRES (voir ci-dessus les propriétés de cette séquence). Dans ce cas, il faut cloner les SR en association avec chacune des séquences Tlr connues.

Dans les deux cas, la molécule Tlr exprime une séquence Tag FLAG à l'extrémité de son domaine extracellulaire. La sélection des clones exprimant conjointement le SR et la molécule Tlr se fera par cytofluorométrie comme décrit ci-dessus en utilisant un anticorps monoclonal anti-FLAGTM (couplé à une molécule
5 fluorescente) pour l'expression du SR et de la molécule fluorescente Dil-Ac-LDL pour l'expression de la molécule Tlr. Après transfection, les cellules sont cultivées en présence du ou des agents de sélection.

Les clones cellulaires sont ensuite utilisés dans les tests de screening comme décrit précédemment. Dans ce cas, le paramètre unique mesuré sera l'activation des
10 cellules par les protéines recombinantes solubles (en mesurant par exemple la production d'IL-8 ou de TNFalpha par les transfectants).

REVENDICATIONS

1. Procédé d'identification de nouvelles molécules d'intérêt thérapeutique, caractérisé en ce qu'on sélectionne les molécules qui se lient aux récepteurs scavengers et qui sont signalées via un récepteur Toll.

2. Procédé d'identification selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il comprend les deux étapes distinctes suivantes :

a) la sélection des molécules qui se lient aux récepteurs scavengers ; et

b) la sélection, parmi les molécules sélectionnées à l'étape a), des molécules qui fournissent un signal d'activation via un récepteur Toll.

3. Procédé d'identification selon la revendication 2, caractérisé en ce que l'étape a) comprend les étapes suivantes :

1) la mise en contact d'une molécule, ou d'un mélange de molécules, connue ou inconnue à tester avec un récepteur scavenger, dans un milieu permettant la fixation éventuelle d'une molécule testée avec ledit récepteur scavenger ;

2) la mise en évidence de la fixation ou non de ladite molécule testée avec ledit récepteur scavenger ; et

3) la sélection de cette molécule si sa fixation avec ledit récepteur scavenger a été mise en évidence à l'étape 2).

4. Procédé selon l'une des revendications 2 et 3, caractérisé en ce que la sélection des molécules capables de se lier au récepteur scavenger est réalisée par une méthode choisie parmi les méthodes suivantes :

- une chromatographie d'affinité ;

- une identification par FACS des molécules se liant à des cellules transfectées par un récepteur scavenger ;

- une technique de type BIACORE ; ou

- un clonage par expression à partir d'une sonde portant un récepteur scavenger.

5. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que ledit récepteur scavenger est choisi parmi les SR-A1, SR-B1, SR-C1, Marco, LOX, notamment LOX-1, CD36, de préférence d'origine humaine.

6. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que ledit récepteur scavenger est choisi parmi :

- les récepteurs scavengers Marco ;
 - le récepteur Marco dont la séquence de l'ADNc codant pour ce récepteur est la séquence SEQ ID No. 1 ;
 - leur fragment comprenant le site de fixation de ces récepteurs ; ou
- 5 - les récepteurs dont la séquence peptidique ou nucléique présente au moins un pourcentage d'identité d'au moins 80 % avec ces récepteurs Marco ou leurs séquences d'ADNc.
7. Procédé selon l'une quelconque des revendications 2 à 6, caractérisé en ce que la deuxième étape b) du procédé d'identification selon l'invention comprend une
- 10 étape d'identification du récepteur Toll -associé à la signalisation cellulaire consécutivement à l'étape a).
8. Procédé selon l'une quelconque des revendications 2 à 6, caractérisé en ce que la deuxième étape b) du procédé d'identification comprend les étapes suivantes :
- A) la mise en contact de ladite molécule sélectionnée à ladite première étape a)
- 15 avec une cellule exprimant ledit récepteur Toll ;
- B) la mesure d'un marqueur significatif d'une activation cellulaire, de préférence médiée par ledit récepteur Toll ;
- C) la sélection de ladite molécule, si ladite mesure à l'étape B) met en évidence la génération ou l'augmentation de ladite activité cellulaire mesurée, de préférence par
- 20 rapport à un contrôle témoin.
9. Procédé selon l'une quelconque des revendications 2 à 8, caractérisé en ce que ladite cellule exprimant ledit récepteur Toll à l'étape A) est une cellule hôte transfectée avec un acide nucléique codant pour ledit récepteur Toll.
10. Procédé selon la revendication 9, caractérisé en ce que ladite cellule
- 25 exprimant ledit récepteur Toll à l'étape A) est une cellule hôte transfectée en outre avec un acide nucléique codant pour un récepteur scavenger, de préférence ledit récepteur scavenger utilisé à l'étape a).
11. Procédé selon l'une des revendications 8 à 10, caractérisé en ce que ledit marqueur utilisé à l'étape B) est choisi parmi :
- 30 - la mesure de la production d'une ou de plusieurs cytokines par ladite cellule utilisée à l'étape A) ;

- la mesure de la modulation de l'expression de molécules de surface par ladite cellule utilisée à l'étape A) ;
 - la mesure de l'activation du facteur de transcription NF-kB par ladite cellule utilisée à l'étape A) ;
- 5 - la mesure du flux calcique, de préférence par une technique fluorométrique.
12. Procédé selon l'une des revendications 8 à 11, caractérisé en ce que ledit marqueur utilisé à l'étape B) est la mesure de la production d'une ou plusieurs cytokines par ladite cellule utilisée à l'étape A).
13. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 12, caractérisé en
- 10 ce que ledit récepteur Toll est choisi parmi les récepteurs Toll Tlr 1, 2, 3, 4, 5 et 6, de préférence d'origine humaine.
14. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 13, caractérisé en ce que ledit récepteur Toll est choisi parmi :
- les récepteurs Toll Tlr 1 et Tlr 4 ;
- 15 - le récepteur Toll Tlr 1 dont la séquence de l'ADNc codant pour ce récepteur est la séquence SEQ ID No. 5 ;
- le récepteur Toll Tlr 4 dont la séquence de l'ADNc codant pour ce récepteur est la séquence SEQ ID No. 7 ;
 - leurs fragments comprenant le domaine responsable de la médiation du signal
- 20 d'activation des cellules ; ou
- les récepteurs dont la séquence peptidique ou nucléique présente au moins un pourcentage d'identité d'au moins 80 % avec ces récepteurs Toll Tlr 1 et Tlr 4 ou leurs séquences d'ADNc.
15. Procédé d'identification selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il
- 25 est mis en oeuvre en une étape α).
16. Procédé d'identification selon la revendication 15, caractérisé en ce que l'unique étape α) met en oeuvre une cellule cotransfectée par un récepteur scavenger et un récepteur Toll.
17. Procédé d'identification selon la revendication 16, caractérisé en ce que
- 30 l'étape α) comprend les étapes suivantes :
- X) la mise en contact d'une molécule, ou d'un mélange de molécules, connue ou inconnue, à tester avec une cellule hôte cotransfectée avec un acide nucléique codant

pour un récepteur scavenger et un acide nucléique codant pour un récepteur Toll, dans un milieu permettant la fixation éventuelle de la ou desdites molécules testées avec ledit récepteur scavenger et/ou l'activation cellulaire éventuelle de ladite cellule médiée par ledit récepteur Toll ;

- 5 Y) la mise en évidence de l'activation cellulaire de ladite cellule médiée par ledit récepteur Toll par la mesure d'au moins un marqueur significatif d'une activation cellulaire, de préférence médiée par ledit récepteur Toll ; et

 Z) la sélection de cette molécule si ladite mesure à l'étape Y) met en évidence la génération ou l'augmentation de ladite activité cellulaire mesurée, de préférence par
10 rapport à un contrôle témoin.

18. Procédé d'identification selon l'une des revendications 16 et 17, caractérisé en ce que lesdits récepteurs Toll et scavengers, lesdits marqueurs de mesure d'activité cellulaire utilisés sont de préférence ceux indiqués pour le procédé en deux étapes selon l'une des revendications 2 à 14.

- 15 19. Procédé d'identification selon l'une des revendications 1 à 18, caractérisé en ce qu'il comprend en outre une étape d'identification de la structure de la molécule sélectionnée si celle-ci n'est pas connue.

20. Procédé d'identification selon l'une quelconque des revendications 1 à 19, utilisé pour identifier de nouvelles HSP, de nouvelles Omp ou leurs analogues.

- 20 21. Composition pharmaceutique caractérisée en ce qu'elle comprend dans un milieu pharmaceutiquement acceptable au moins une molécule se liant aux récepteurs scavengers et signalée via un récepteur Toll, ladite molécule étant identifiée par un procédé selon l'une des revendications 1 à 20.

25 22. Composition selon la revendication 21, caractérisée en ce qu'elle contient en outre un antigène, immunogène ou haptène.

23. Composition selon la revendication 22, caractérisée en ce que ledit antigène, immunogène ou haptène est choisi parmi les protéines, les peptides, les glycopeptides, les lipopeptides, les polysaccharides, les oligosaccharides, les acides nucléiques et les lipides.

- 30 24. Composition selon la revendication 22 ou 23, caractérisée en ce que ledit antigène, immunogène ou haptène dérive d'un virus, d'une bactérie, d'une levure, d'un parasite ou d'un champignon.

25. Composition selon la revendication 24, caractérisée en ce que ledit antigène, immunogène ou haptène comprend au moins un peptide dérivé de micro-organisme responsable de pathologies des voies aériennes choisi parmi le VRS, le para influenza virus (PIV), l'influenza virus, les hantavirus, les streptocoques, les pneumocoques, haemophilus influenza type b, les rhinovirus, les coronavirus et les méningocoques.

26. Composition selon la revendication 22, caractérisée en ce que l'antigène, immunogène ou haptène est associé ou spécifique d'une cellule tumorale.

27. Composition selon l'une des revendications 21 à 26, caractérisée en ce que ladite composition pharmaceutique ne contient pas d'adjuvant autre que la molécule se liant aux récepteurs scavengers et signalée via un récepteur Toll.

28. Composition selon l'une des revendications 21 à 27, caractérisée en ce que ladite composition pharmaceutique est véhiculée sous une forme permettant d'améliorer sa stabilité et/ou son immunogénicité.

29. Utilisation d'une molécule se liant aux récepteurs scavengers et signalée via un récepteur Toll, ladite molécule étant identifiée par un procédé selon l'une des revendications 1 à 20 comme porteur et/ou adjuvant dans un vaccin.

30. Utilisation d'une molécule se liant aux récepteurs scavengers et signalée via un récepteur Toll pour la préparation d'un vaccin destiné au traitement prophylactique ou thérapeutique des infections virales, bactériennes, parasitaires ou fongiques ou pour la préparation d'un vaccin destiné au traitement prophylactique ou thérapeutique des cancers, ladite molécule étant identifiée par un procédé selon l'une des revendications 1 à 20.

31. Utilisation d'une molécule se liant aux récepteurs scavengers et signalée via un récepteur Toll pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à générer ou accroître une réponse immunitaire contre un agent infectieux ou une cellule tumorale, ladite molécule étant identifiée par un procédé selon l'une des revendications 1 à 20.

32. Utilisation d'une molécule se liant aux récepteurs scavengers et signalée via un récepteur Toll pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée à générer ou accroître une réponse T cytotoxique contre un agent infectieux ou une cellule

tumorale, ladite molécule étant identifiée par un procédé selon l'une des revendications 1 à 20.

33. Utilisation d'une molécule se liant aux récepteurs scavengers et signalée via un récepteur Toll pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée au ciblage spécifique d'une substance biologiquement active qui lui est associée vers les cellules présentatrices d'antigènes, ladite molécule étant identifiée par un procédé selon l'une des revendications 1 à 20.

34. Utilisation selon la revendication 33, caractérisée en ce que lesdites cellules présentatrices d'antigènes sont choisies parmi les cellules dendritiques, les macrophages, les lymphocytes B ou les monocytes et préférentiellement parmi les cellules dendritiques.

35. Utilisation selon la revendication 33 ou 34, caractérisée en ce que ladite substance biologiquement active est un antigène ou haptène ou un facteur de croissance.

36. Utilisation selon l'une des revendications 33 à 35, caractérisée en ce que ladite substance biologiquement active est choisie parmi les protéines ou les peptides, les lipopeptides, les poly- ou oligosaccharides, les acides nucléiques, les lipides et les substances chimiques.

37. Utilisation selon l'une des revendications 33 à 36, caractérisée en ce que ladite molécule est capable d'être internalisée après sa fixation dans une cellule présentatrice d'antigène.

1/1

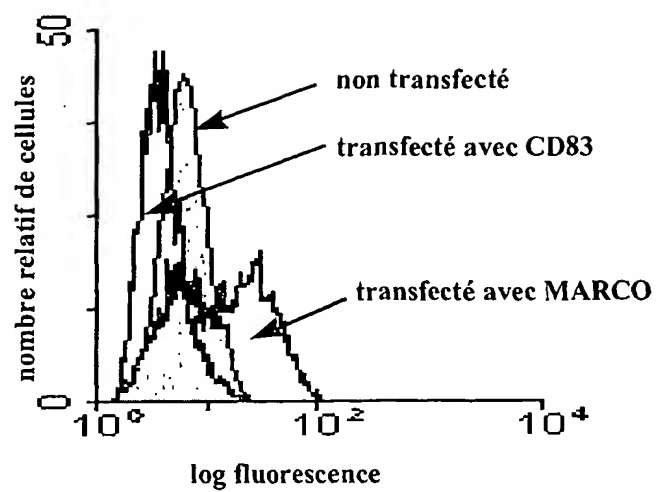


FIGURE 1

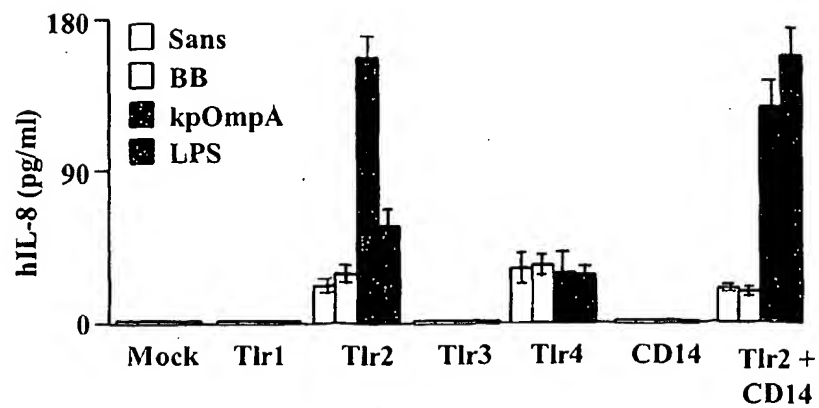


FIGURE 2

LISTE DE SEQUENCES

<110> Pierre Fabre Médicament

<120> Procédé d'identification de nouvelles molécules se
liant aux récepteurs scavengers et signalées via un
récepteur Toll

<130> D19109

<140>

<141>

<150> FR 00 13883

<151> 2000-10-27

<160> 10

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 1712

<212> ADNc

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1563)

<223> Récepteur Marco d'origine humaine.

<400> 1

atg aga aat aag aaa att ctc aag gag gac gag ctc ttg agt gag acc	48
Met Arg Asn Lys Lys Ile Leu Lys Glu Asp Glu Leu Leu Ser Glu Thr	
1 5 10 15	
caa caa gct gct ttt cac caa att gca atg gag cct ttc gaa atc aat	96
Gln Gln Ala Ala Phe His Gln Ile Ala Met Glu Pro Phe Glu Ile Asn	
20 25 30	
gtt cca aag ccc aag agg aga aat ggg gtg aac ttc tcc cta gct gtg	144
Val Pro Lys Pro Lys Arg Arg Asn Gly Val Asn Phe Ser Leu Ala Val	
35 40 45	
gtg gtc atc tac ctg atc ctg ctc acc gct ggc gct ggg ctg ctg gtg	192
Val Val Ile Tyr Leu Ile Leu Leu Thr Ala Gly Ala Gly Leu Leu Val	
50 55 60	
gtc caa gtt ctg aat ctg cag gcg cgg ctc cgg gtc ctg gag atg tat	240
Val Gln Val Leu Asn Leu Gln Ala Arg Leu Arg Val Leu Glu Met Tyr	
65 70 75 80	
ttc ctc aat gac act ctg gcg gct gag gac agc ccg tcc ttc tcc ttg	288
Phe Leu Asn Asp Thr Leu Ala Ala Glu Asp Ser Pro Ser Phe Ser Leu	
85 90 95	
ctg cag tca gca cac cct gga gaa cac ctg gct cag ggt gca tcg agg	336
Leu Gln Ser Ala His Pro Gly Glu His Leu Ala Gln Gly Ala Ser Arg	
100 105 110	
ctg caa gtc ctg cag gcc caa ctc acc tgg gtc cgc gtc agc cat gag	384
Leu Gln Val Leu Gln Ala Gln Leu Thr Trp Val Arg Val Ser His Glu	
115 120 125	

cac ttg ctg cag cgg gta gac aac ttc act cag aac cca ggg atg ttc His Leu Leu Gln Arg Val Asp Asn Phe Thr Gln Asn Pro Gly Met Phe 130 135 140	432
aga atc aaa ggt gaa caa ggc gcc cca ggt ctt caa ggt cac aag ggg Arg Ile Lys Gly Glu Gln Gly Ala Pro Gly Leu Gln Gly His Lys Gly 145 150 155 160	480
gcc atg ggc atg cct ggt gcc cct ggc ccg ccg gga cca cct gct gag Ala Met Gly Met Pro Gly Ala Pro Gly Pro Pro Gly Pro Pro Ala Glu 165 170 175	528
aag gga gcc aag ggg gct atg gga cga gat gga gca aca ggc ccc tcg Lys Gly Ala Lys Gly Ala Met Gly Arg Asp Gly Ala Thr Gly Pro Ser 180 185 190	576
gga ccc caa ggc cca ccg gga gtc aag gga gag gcg ggc ctc caa gga Gly Pro Gln Gly Pro Pro Gly Val Lys Gly Glu Ala Gly Leu Gln Gly 195 200 205	624
ccc cag ggt gct cca ggg aag caa gga gcc act ggc acc cca gga ccc Pro Gln Gly Ala Pro Gly Lys Gln Gly Ala Thr Gly Thr Pro Gly Pro 210 215 220	672
caa gga gag aag ggc agc aaa ggc gat ggg ggt ctc att ggc cca aaa Gln Gly Glu Lys Gly Ser Lys Gly Asp Gly Gly Leu Ile Gly Pro Lys 225 230 235 240	720
ggg gaa act gga act aag gga gag aaa gga gac ctg ggt ctc cca gga Gly Glu Thr Gly Thr Lys Gly Glu Lys Gly Asp Leu Gly Leu Pro Gly 245 250 255	768
agc aaa ggg gac agg ggc atg aaa gga gat gca ggg gtc atg ggg cct Ser Lys Gly Asp Arg Gly Met Lys Gly Asp Ala Gly Val Met Gly Pro 260 265 270	816
cct gga gcc cag ggg agt aaa ggt gac ttc ggg agg cca ggc cca cca Pro Gly Ala Gln Gly Ser Lys Gly Asp Phe Gly Arg Pro Gly Pro Pro 275 280 285	864
ggt ttg gct ggt ttt cct gga gct aaa gga gat caa gga caa cct gga Gly Leu Ala Gly Phe Pro Gly Ala Lys Gly Asp Gln Gly Gln Pro Gly 290 295 300	912
ctg cag ggt gtt ccg ggc cct cct ggt gca gtg gga cac cca ggt gcc Leu Gln Gly Val Pro Gly Pro Pro Gly Ala Val Gly His Pro Gly Ala 305 310 315 320	960
aag ggt gag cct ggc agt gct ggc tcc cct ggg cga gca gga ctt cca Lys Gly Glu Pro Gly Ser Ala Gly Ser Pro Gly Arg Ala Gly Leu Pro 325 330 335	1008
ggg agc ccc ggg agt cca gga gcc aca ggc ctg aaa gga agc aaa ggg Gly Ser Pro Gly Ser Pro Gly Ala Thr Gly Leu Lys Gly Ser Lys Gly 340 345 350	1056
gac aca gga ctt caa gga cag caa gga aga aaa gga gaa tca gga gtt Asp Thr Gly Leu Gln Gly Gln Gln Gly Arg Lys Gly Glu Ser Gly Val 355 360 365	1104

cca ggc cct gca ggt gtg aag gga gaa cag ggg agc cca ggg ctg gca 1152
 Pro Gly Pro Ala Gly Val Lys Gly Glu Gln Gly Ser Pro Gly Leu Ala
 370 375 380

ggt ccc aag gga gcc cct gga caa gct ggc cag aag gga gac cag gga 1200
 Gly Pro Lys Gly Ala Pro Gly Gln Ala Gly Gln Lys Gly Asp Gln Gly
 385 390 395 400

gtg aaa gga tct tct ggg gag caa gga gta aag gga gaa aaa ggt gaa 1248
 Val Lys Gly Ser Ser Gly Glu Gln Gly Val Lys Gly Glu Lys Gly Glu
 405 410 415

aga ggt gaa aac tca gtg tcc gtc agg att gtc ggc agt agt aac cga 1296
 Arg Gly Glu Asn Ser Val Ser Val Arg Ile Val Gly Ser Ser Asn Arg
 420 425 430

ggc cgg gct gaa gtt tac tac agt ggt acc tgg ggg aca att tgc gat 1344
 Gly Arg Ala Glu Val Tyr Tyr Ser Gly Thr Trp Gly Thr Ile Cys Asp
 435 440 445

gac gag tgg caa aat tct gat gcc att gtc ttc tgc cgc atg ctg ggt 1392
 Asp Glu Trp Gln Asn Ser Asp Ala Ile Val Phe Cys Arg Met Leu Gly
 450 455 460

tac tcc aaa gga agg gcc ctg tac aaa gtg gga gct ggc act ggg cag 1440
 Tyr Ser Lys Gly Arg Ala Leu Tyr Lys Val Gly Ala Gly Thr Gly Gln
 465 470 475 480

atc tgg ctg gat aat gtt cag tgt cgg ggc acg gag agt acc ctg tgg 1488
 Ile Trp Leu Asp Asn Val Gln Cys Arg Gly Thr Glu Ser Thr Leu Trp
 485 490 495

agc tgc acc aag aat agc tgg ggc cat cat gac tgc agc cac gag gag 1536
 Ser Cys Thr Lys Asn Ser Trp Gly His His Asp Cys Ser His Glu Glu
 500 505 510

gac gca ggc gtg gag tgc agc gtc tga cccggaaacc ctttcacttc 1583
 Asp Ala Gly Val Glu Cys Ser Val
 515 520

tctgctcccg aggtgtcctc gggctcatat gtgggaaggc agaggatctc tgaggagttc 1643

cctggggaca actgagcagc ctctggagag gggccattaa taaagctcaa catcaaaaaa 1703

accggaatt 1712

<210> 2
 <211> 520
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 2
 Met Arg Asn Lys Lys Ile Leu Lys Glu Asp Glu Leu Leu Ser Glu Thr
 1 5 10 15
 Gln Gln Ala Ala Phe His Gln Ile Ala Met Glu Pro Phe Glu Ile Asn
 20 25 30
 Val Pro Lys Pro Lys Arg Arg Asn Gly Val Asn Phe Ser Leu Ala Val
 35 40 45

Val Val Ile Tyr Leu Ile Leu Leu Thr Ala Gly Ala Gly Leu Leu Val
 50 55 60
 Val Gln Val Leu Asn Leu Gln Ala Arg Leu Arg Val Leu Glu Met Tyr
 65 70 75 80
 Phe Leu Asn Asp Thr Leu Ala Ala Glu Asp Ser Pro Ser Phe Ser Leu
 85 90 95
 Leu Gln Ser Ala His Pro Gly Glu His Leu Ala Gln Gly Ala Ser Arg
 100 105 110
 Leu Gln Val Leu Gln Ala Gln Leu Thr Trp Val Arg Val Ser His Glu
 115 120 125
 His Leu Leu Gln Arg Val Asp Asn Phe Thr Gln Asn Pro Gly Met Phe
 130 135 140
 Arg Ile Lys Gly Glu Gln Gly Ala Pro Gly Leu Gln Gly His Lys Gly
 145 150 155 160
 Ala Met Gly Met Pro Gly Ala Pro Gly Pro Pro Gly Pro Pro Ala Glu
 165 170 175
 Lys Gly Ala Lys Gly Ala Met Gly Arg Asp Gly Ala Thr Gly Pro Ser
 180 185 190
 Gly Pro Gln Gly Pro Pro Gly Val Lys Gly Glu Ala Gly Leu Gln Gly
 195 200 205
 Pro Gln Gly Ala Pro Gly Lys Gln Gly Ala Thr Gly Thr Pro Gly Pro
 210 215 220
 Gln Gly Glu Lys Gly Ser Lys Gly Asp Gly Gly Leu Ile Gly Pro Lys
 225 230 235 240
 Gly Glu Thr Gly Thr Lys Gly Glu Lys Gly Asp Leu Gly Leu Pro Gly
 245 250 255
 Ser Lys Gly Asp Arg Gly Met Lys Gly Asp Ala Gly Val Met Gly Pro
 260 265 270
 Pro Gly Ala Gln Gly Ser Lys Gly Asp Phe Gly Arg Pro Gly Pro Pro
 275 280 285
 Gly Leu Ala Gly Phe Pro Gly Ala Lys Gly Asp Gln Gly Gln Pro Gly
 290 295 300
 Leu Gln Gly Val Pro Gly Pro Pro Gly Ala Val Gly His Pro Gly Ala
 305 310 315 320
 Lys Gly Glu Pro Gly Ser Ala Gly Ser Pro Gly Arg Ala Gly Leu Pro
 325 330 335
 Gly Ser Pro Gly Ser Pro Gly Ala Thr Gly Leu Lys Gly Ser Lys Gly
 340 345 350
 Asp Thr Gly Leu Gln Gly Gln Gln Gly Arg Lys Gly Glu Ser Gly Val
 355 360 365
 Pro Gly Pro Ala Gly Val Lys Gly Glu Gln Gly Ser Pro Gly Leu Ala

370 375 380
 Gly Pro Lys Gly Ala Pro Gly Gln Ala Gly Gln Lys Gly Asp Gln Gly
 385 390 395 400
 Val Lys Gly Ser Ser Gly Glu Gln Gly Val Lys Gly Glu Lys Gly Glu
 405 410 415
 Arg Gly Glu Asn Ser Val Ser Val Arg Ile Val Gly Ser Ser Asn Arg
 420 425 430
 Gly Arg Ala Glu Val Tyr Tyr Ser Gly Thr Trp Gly Thr Ile Cys Asp
 435 440 445
 Asp Glu Trp Gln Asn Ser Asp Ala Ile Val Phe Cys Arg Met Leu Gly
 450 455 460
 Tyr Ser Lys Gly Arg Ala Leu Tyr Lys Val Gly Ala Gly Thr Gly Gln
 465 470 475 480
 Ile Trp Leu Asp Asn Val Gln Cys Arg Gly Thr Glu Ser Thr Leu Trp
 485 490 495
 Ser Cys Thr Lys Asn Ser Trp Gly His His Asp Cys Ser His Glu Glu
 500 505 510
 Asp Ala Gly Val Glu Cys Ser Val
 515 520

<210> 3

<211> 2463

<212> ADNC

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (62)..(883)

<223> Récepteur LOX-1 d'origine humaine.

<400> 3

atttttagtt tgttgaagtt cgtgactgct tcactctctc attcttagct tgaatttga 60

a atg act ttt gat gac cta aag atc cag act gtg aag gac cag cct gat 109

 Met Thr Phe Asp Asp Leu Lys Ile Gln Thr Val Lys Asp Gln Pro Asp
 1 5 10 15

gag aag tca aat gga aaa aaa gct aaa ggt ctt cag ttt ctt tac tct 157

 Glu Lys Ser Asn Gly Lys Lys Ala Lys Gly Leu Gln Phe Leu Tyr Ser
 20 25 30

cca tgg tgg tgc ctg gct gct gcg act cta ggg gtc ctt tgc ctg gga 205

 Pro Trp Trp Cys Leu Ala Ala Ala Thr Leu Gly Val Leu Cys Leu Gly
 35 40 45

tta gta gtg acc att atg gtg ctg ggc atg caa tta tcc cag gtg tct 253

 Leu Val Val Thr Ile Met Val Leu Gly Met Gln Leu Ser Gln Val Ser
 50 55 60

gac ctc cta aca caa gag caa gca aac cta act cac cag aaa aag aaa 301

Asp Leu Leu Thr Gln Glu Gln Ala Asn Leu Thr His Gln Lys Lys Lys

65	70	75	80	
ctg gag gga cag atc tca gcc cgg caa caa gca gaa gaa gct tca cag				349
Leu Glu Gly Gln Ile Ser Ala Arg Gln Gln Ala Glu Glu Ala Ser Gln				
	85	90	95	
gag tca gaa aac gaa ctc aag gaa atg ata gaa acc ctt gct cgg aag				397
Glu Ser Glu Asn Glu Leu Lys Glu Met Ile Glu Thr Leu Ala Arg Lys				
	100	105	110	
ctg aat gag aaa tcc aaa gag caa atg gaa ctt cac cac cag aat ctg				445
Leu Asn Glu Lys Ser Lys Glu Gln Met Glu Leu His His Gln Asn Leu				
	115	120	125	
aat ctc caa gaa aca ctg aag aga gta gca aat tgt tca gct cct tgt				493
Asn Leu Gln Glu Thr Leu Lys Arg Val Ala Asn Cys Ser Ala Pro Cys				
	130	135	140	
ccg caa gac tgg atc tgg cat gga gaa aac tgt tac cta ttt tcc tcg				541
Pro Gln Asp Trp Ile Trp His Gly Glu Asn Cys Tyr Leu Phe Ser Ser				
	145	150	155	160
ggc tca ttt aac tgg gaa aag agc caa gag aag tgc ttg tct ttg gat				589
Gly Ser Phe Asn Trp Glu Lys Ser Gln Glu Lys Cys Leu Ser Leu Asp				
	165	170	175	
gcc aag ttg ctg aaa att aat agc aca gct gat ctg gac ttc atc cag				637
Ala Lys Leu Leu Lys Ile Asn Ser Thr Ala Asp Leu Asp Phe Ile Gln				
	180	185	190	
caa gca att tcc tat tcc agt ttt cca ttc tgg atg ggg ctg tct cgg				685
Gln Ala Ile Ser Tyr Ser Ser Phe Pro Phe Trp Met Gly Leu Ser Arg				
	195	200	205	
agg aac ccc agc tac cca tgg ctc tgg gag gac ggt tct cct ttg atg				733
Arg Asn Pro Ser Tyr Pro Trp Leu Trp Glu Asp Gly Ser Pro Leu Met				
	210	215	220	
ccc cac tta ttt aga gtc cga ggc gct gtc tcc cag aca tac cct tca				781
Pro His Leu Phe Arg Val Arg Gly Ala Val Ser Gln Thr Tyr Pro Ser				
	225	230	235	240
ggt acc tgt gca tat ata caa cga gga gct gtt tat gcg gaa aac tgc				829
Gly Thr Cys Ala Tyr Ile Gln Arg Gly Ala Val Tyr Ala Glu Asn Cys				
	245	250	255	
att tta gct gcc ttc agt ata tgt cag aag aag gca aac cta aga gca				877
Ile Leu Ala Ala Phe Ser Ile Cys Gln Lys Lys Ala Asn Leu Arg Ala				
	260	265	270	
cag tga atttgaaggc tctggaagaa aagaaaaaag tctttgagtt ttattctgga				933
Gln				
atttaagcta ttctttgtca cttgggtgcc aaacatgaga gcccagaaaa ctgtcattta				993
gctggctgca gaactccttt gcagaaactg ggggtccagg tgcctggcac ctttatgtca				1053
acatttttga ttctagctat ctgtattatt tcacctagct tgtcccaagc ttccctgcca				1113
gcctgaagtc cattttcccc tttttatattt aaaatttgac tcctcttcaa gcttgaaaac				1173
cctctgaact cagtcctctt tacctcatta tcaccttccc ctccactcc taaaattgca				1233

tgaagacag aacatggaga acttgctcaa gtgcaggcag agagcaaaaa ggggaaatat 1293
 gtctgggaaa aagtgcacgt gaagaaacaa agaaggacag aggccattcc gaaatcaaga 1353
 aactcatgtt cttaacttta aaaaaggat caatccttgg tttttaaaact gtggtccatc 1413
 tccagactct accacttacg gacagacaga cagacagaca cacacacaca cacacacaca 1473
 cacatttttg gacaagtggg gagcccaaga aagtaattag taagtgagtg gtcttttctg 1533
 taagctaata cacaacctgt taccacttcc tgaatcagtt attatttctt catttttttt 1593
 tctaccagag gacagattaa tagatttaac ccttcacaac agttcttggt agaatcatgg 1653
 gatgtgtggc ccagaggtaa gaatagaatt tctttcccta aagaacatac cttttgtaga 1713
 tgaactcttc tcaactctgt ttgctatgc tataattccg aaacatacaa gacaaaaaaaa 1773
 atgaagacac tcaatctaga acaactaag ccaggatgc aaatatcgct gaatagaaac 1833
 agatggaatt agaaatatat cttctatttt taggcttcta tttcctttcc accactctt 1893
 cacaggctat tctactctaa aggaagcctt tttattttgc tgcacacaat ctagcaggaa 1953
 tctttttttt tttttaaga gctgtgtcat cttatgtag gcaagagatg ttgcttttg 2013
 ttaaaagctt tattgagata taattaacat aaaataaact gaacatatth aaagtgtact 2073
 atttgataag ttttcacacc ttgtggagaa catgcatact acaattaaga gagtgaacat 2133
 atccatcatc cctcaaagtg tcacaatgct cctcctgatg actcctcccc agaaaaccac 2193
 caatcggtt tcattttgca ttttgtagtt ttatgtgaat ggaatcatat agtatgtctt 2253
 ttttttttct ctggcttctt tcactttgca taattatttt gagattcata tgtctccatc 2313
 ttgatgctcg tatgaattca ttcttttaaa tgttgaatat tcccttgat ggatatacca 2373
 caattcattt acccatthac ttgttgatga catttgggtt gttttagttt tgggatatta 2433
 caaataaagc tgctgtgaac atttgtgtac 2463

<210> 4

<211> 273

<212> PRT

<213> Homo sapiens

<400> 4

Met Thr Phe Asp Asp Leu Lys Ile Gln Thr Val Lys Asp Gln Pro Asp
 1 5 10 15

Glu Lys Ser Asn Gly Lys Lys Ala Lys Gly Leu Gln Phe Leu Tyr Ser
 20 25 30

Pro Trp Trp Cys Leu Ala Ala Ala Thr Leu Gly Val Leu Cys Leu Gly
 35 40 45

Leu Val Val Thr Ile Met Val Leu Gly Met Gln Leu Ser Gln Val Ser
 50 55 60

Asp Leu Leu Thr Gln Glu Gln Ala Asn Leu Thr His Gln Lys Lys Lys
 65 70 75 80
 Leu Glu Gly Gln Ile Ser Ala Arg Gln Gln Ala Glu Glu Ala Ser Gln
 85 90 95
 Glu Ser Glu Asn Glu Leu Lys Glu Met Ile Glu Thr Leu Ala Arg Lys
 100 105 110
 Leu Asn Glu Lys Ser Lys Glu Gln Met Glu Leu His His Gln Asn Leu
 115 120 125
 Asn Leu Gln Glu Thr Leu Lys Arg Val Ala Asn Cys Ser Ala Pro Cys
 130 135 140
 Pro Gln Asp Trp Ile Trp His Gly Glu Asn Cys Tyr Leu Phe Ser Ser
 145 150 155 160
 Gly Ser Phe Asn Trp Glu Lys Ser Gln Glu Lys Cys Leu Ser Leu Asp
 165 170 175
 Ala Lys Leu Leu Lys Ile Asn Ser Thr Ala Asp Leu Asp Phe Ile Gln
 180 185 190
 Gln Ala Ile Ser Tyr Ser Ser Phe Pro Phe Trp Met Gly Leu Ser Arg
 195 200 205
 Arg Asn Pro Ser Tyr Pro Trp Leu Trp Glu Asp Gly Ser Pro Leu Met
 210 215 220
 Pro His Leu Phe Arg Val Arg Gly Ala Val Ser Gln Thr Tyr Pro Ser
 225 230 235 240
 Gly Thr Cys Ala Tyr Ile Gln Arg Gly Ala Val Tyr Ala Glu Asn Cys
 245 250 255
 Ile Leu Ala Ala Phe Ser Ile Cys Gln Lys Lys Ala Asn Leu Arg Ala
 260 265 270

Gln

<210> 5
 <211> 2600
 <212> ADNc
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (130)..(2484)
 <223> Récepteur Tlr2 d'origine humaine.

<400> 5
 ggatccaaag gagacctata gtgactccca ggagctctta gtgaccaagt gaaggtacct 60
 tgggggctca ttgtgcccac tgctctttca ctgctttcaa ctggtagttg tgggttgaag 120
 cactggaca atg cca cat act ttg tgg atg gtg tgg gtc ttg ggg gtc atc 171
 Met Pro His Thr Leu Trp Met Val Trp Val Leu Gly Val Ile
 1 5 10

atc agc ctc tcc aag gaa gaa tcc tcc aat cag gct tct ctg tct tgt	219
Ile Ser Leu Ser Lys Glu Glu Ser Ser Asn Gln Ala Ser Leu Ser Cys	
15 20 25 30	
gac cgc aat ggt atc tgc aag ggc agc tca gga tct tta aac tcc att	267
Asp Arg Asn Gly Ile Cys Lys Gly Ser Ser Gly Ser Leu Asn Ser Ile	
35 40 45	
ccc tca ggg ctc aca gaa gct gta aaa agc ctt gac ctg tcc aac aac	315
Pro Ser Gly Leu Thr Glu Ala Val Lys Ser Leu Asp Leu Ser Asn Asn	
50 55 60	
agg atc acc tac att agc aac agt gac cta cag agg tgt gtg aac ctc	363
Arg Ile Thr Tyr Ile Ser Asn Ser Asp Leu Gln Arg Cys Val Asn Leu	
65 70 75	
cag gct ctg gtg ctg aca tcc aat gga att aac aca ata gag gaa gat	411
Gln Ala Leu Val Leu Thr Ser Asn Gly Ile Asn Thr Ile Glu Glu Asp	
80 85 90	
tct ttt tct tcc ctg ggc agt ctt gaa cat tta gac tta tcc tat aat	459
Ser Phe Ser Ser Leu Gly Ser Leu Glu His Leu Asp Leu Ser Tyr Asn	
95 100 105 110	
tac tta tct aat tta tcg tct tcc tgg ttc aag ccc ctt tct tct tta	507
Tyr Leu Ser Asn Leu Ser Ser Ser Trp Phe Lys Pro Leu Ser Ser Leu	
115 120 125	
aca ttc tta aac tta ctg gga aat cct tac aaa acc cta ggg gaa aca	555
Thr Phe Leu Asn Leu Leu Gly Asn Pro Tyr Lys Thr Leu Gly Glu Thr	
130 135 140	
tct ctt ttt tct cat ctc aca aaa ttg caa atc ctg aga gtg gga aat	603
Ser Leu Phe Ser His Leu Thr Lys Leu Gln Ile Leu Arg Val Gly Asn	
145 150 155	
atg gac acc ttc act aag att caa aga aaa gat ttt gct gga ctt acc	651
Met Asp Thr Phe Thr Lys Ile Gln Arg Lys Asp Phe Ala Gly Leu Thr	
160 165 170	
ttc ctt gag gaa ctt gag att gat gct tca gat cta cag agc tat gag	699
Phe Leu Glu Glu Leu Glu Ile Asp Ala Ser Asp Leu Gln Ser Tyr Glu	
175 180 185 190	
cca aaa agt ttg aag tca att cag aac gta agt cat ctg atc ctt cat	747
Pro Lys Ser Leu Lys Ser Ile Gln Asn Val Ser His Leu Ile Leu His	
195 200 205	
atg aag cag cat att tta ctg ctg gag att ttt gta gat gtt aca agt	795
Met Lys Gln His Ile Leu Leu Leu Glu Ile Phe Val Asp Val Thr Ser	
210 215 220	
tcc gtg gaa tgt ttg gaa ctg cga gat act gat ttg gac act ttc cat	843
Ser Val Glu Cys Leu Glu Leu Arg Asp Thr Asp Leu Asp Thr Phe His	
225 230 235	
ttt tca gaa cta tcc act ggt gaa aca aat tca ttg att aaa aag ttt	891
Phe Ser Glu Leu Ser Thr Gly Glu Thr Asn Ser Leu Ile Lys Lys Phe	
240 245 250	
aca ttt aga aat gtg aaa atc acc gat gaa agt ttg ttt cag gtt atg	939
Thr Phe Arg Asn Val Lys Ile Thr Asp Glu Ser Leu Phe Gln Val Met	

255	260	265	270	
aaa ctt ttg aat cag att tct gga ttg tta gaa tta gag ttt gat gac				987
Lys Leu Leu Asn Gln Ile Ser Gly Leu Leu Glu Leu Glu Phe Asp Asp	275	280	285	
tgt acc ctt aat gga gtt ggt aat ttt aga gca tct gat aat gac aga				1035
Cys Thr Leu Asn Gly Val Gly Asn Phe Arg Ala Ser Asp Asn Asp Arg	290	295	300	
gtt ata gat cca ggt aaa gtg gaa acg tta aca atc cgg agg ctg cat				1083
Val Ile Asp Pro Gly Lys Val Glu Thr Leu Thr Ile Arg Arg Leu His	305	310	315	
att cca agg ttt tac tta ttt tat gat ctg agc act tta tat tca ctt				1131
Ile Pro Arg Phe Tyr Leu Phe Tyr Asp Leu Ser Thr Leu Tyr Ser Leu	320	325	330	
aca gaa aga gtt aaa aga atc aca gta gaa aac agt aaa gtt ttt ctg				1179
Thr Glu Arg Val Lys Arg Ile Thr Val Glu Asn Ser Lys Val Phe Leu	335	340	345	350
gtt cct tgt tta ctt tca caa cat tta aaa tca tta gaa tac ttg gat				1227
Val Pro Cys Leu Leu Ser Gln His Leu Lys Ser Leu Glu Tyr Leu Asp	355	360	365	
ctc agt gaa aat ttg atg gtt gaa gaa tac ttg aaa aat tca gcc tgt				1275
Leu Ser Glu Asn Leu Met Val Glu Glu Tyr Leu Lys Asn Ser Ala Cys	370	375	380	
gag gat gcc tgg ccc tct cta caa act tta att tta agg caa aat cat				1323
Glu Asp Ala Trp Pro Ser Leu Gln Thr Leu Ile Leu Arg Gln Asn His	385	390	395	
ttg gca tca ttg gaa aaa acc gga gag act ttg ctc act ctg aaa aac				1371
Leu Ala Ser Leu Glu Lys Thr Gly Glu Thr Leu Leu Thr Leu Lys Asn	400	405	410	
ttg act aac att gat atc agt aag aat agt ttt cat tct atg cct gaa				1419
Leu Thr Asn Ile Asp Ile Ser Lys Asn Ser Phe His Ser Met Pro Glu	415	420	425	430
act tgt cag tgg cca gaa aag atg aaa tat ttg aac tta tcc agc aca				1467
Thr Cys Gln Trp Pro Glu Lys Met Lys Tyr Leu Asn Leu Ser Ser Thr	435	440	445	
cga ata cac agt gta aca ggc tgc att ccc aag aca ctg gaa att tta				1515
Arg Ile His Ser Val Thr Gly Cys Ile Pro Lys Thr Leu Glu Ile Leu	450	455	460	
gat gtt agc aac aac aat ctc aat tta ttt tct ttg aat ttg ccg caa				1563
Asp Val Ser Asn Asn Asn Leu Asn Leu Phe Ser Leu Asn Leu Pro Gln	465	470	475	
ctc aaa gaa ctt tat att tcc aga aat aag ttg atg act cta cca gat				1611
Leu Lys Glu Leu Tyr Ile Ser Arg Asn Lys Leu Met Thr Leu Pro Asp	480	485	490	
gcc tcc ctc tta ccc atg tta cta gta ttg aaa atc agt agg aat gca				1659
Ala Ser Leu Leu Pro Met Leu Leu Val Leu Lys Ile Ser Arg Asn Ala	495	500	505	510

ata act acg ttt tct aag gag caa ctt gac tca ttt cac aca ctg aag	1707
Ile Thr Thr Phe Ser Lys Glu Gln Leu Asp Ser Phe His Thr Leu Lys	
515 520 525	
act ttg gaa gct ggt ggc aat aac ttc att tgc tcc tgt gaa ttc ctc	1755
Thr Leu Glu Ala Gly Gly Asn Asn Phe Ile Cys Ser Cys Glu Phe Leu	
530 535 540	
tcc ttc act cag gag cag caa gca ctg gcc aaa gtc ttg att gat tgg	1803
Ser Phe Thr Gln Glu Gln Gln Ala Leu Ala Lys Val Leu Ile Asp Trp	
545 550 555	
cca gca aat tac ctg tgt gac tct cca tcc cat gtg cgt ggc cag cag	1851
Pro Ala Asn Tyr Leu Cys Asp Ser Pro Ser His Val Arg Gly Gln Gln	
560 565 570	
gtt cag gat gtc cgc ctc tcg gtg tcg gaa tgt cac agg aca gca ctg	1899
Val Gln Asp Val Arg Leu Ser Val Ser Glu Cys His Arg Thr Ala Leu	
575 580 585 590	
gtg tct ggc atg tgc tgt gct ctg ttc ctg ctg atc ctg ctc acg ggg	1947
Val Ser Gly Met Cys Cys Ala Leu Phe Leu Leu Ile Leu Leu Thr Gly	
595 600 605	
gtc ctg tgc cac cgt ttc cat ggc ctg tgg tat atg aaa atg atg tgg	1995
Val Leu Cys His Arg Phe His Gly Leu Trp Tyr Met Lys Met Met Trp	
610 615 620	
gcc tgg ctc cag gcc aaa agg aag ccc agg aaa gct ccc agc agg aac	2043
Ala Trp Leu Gln Ala Lys Arg Lys Pro Arg Lys Ala Pro Ser Arg Asn	
625 630 635	
atc tgc tat gat gca ttt gtt tct tac agt gag cgg gat gcc tac tgg	2091
Ile Cys Tyr Asp Ala Phe Val Ser Tyr Ser Glu Arg Asp Ala Tyr Trp	
640 645 650	
gtg gag aac ctt atg gtc cag gag ctg gag aac ttc aat ccc ccc ttc	2139
Val Glu Asn Leu Met Val Gln Glu Leu Glu Asn Phe Asn Pro Pro Phe	
655 660 665 670	
aag ttg tgt ctt cat aag cgg gac ttc att cct ggc aag tgg atc att	2187
Lys Leu Cys Leu His Lys Arg Asp Phe Ile Pro Gly Lys Trp Ile Ile	
675 680 685	
gac aat atc att gac tcc att gaa aag agc cac aaa act gtc ttt gtg	2235
Asp Asn Ile Ile Asp Ser Ile Glu Lys Ser His Lys Thr Val Phe Val	
690 695 700	
ctt tct gaa aac ttt gtg aag agt gag tgg tgc aag tat gaa ctg gac	2283
Leu Ser Glu Asn Phe Val Lys Ser Glu Trp Cys Lys Tyr Glu Leu Asp	
705 710 715	
ttc tcc cat ttc cgt ctt ttt gaa gag aac aat gat gct gcc att ctc	2331
Phe Ser His Phe Arg Leu Phe Glu Glu Asn Asn Asp Ala Ala Ile Leu	
720 725 730	
att ctt ctg gag ccc att gag aaa aaa gcc att ccc cag cgc ttc tgc	2379
Ile Leu Leu Glu Pro Ile Glu Lys Lys Ala Ile Pro Gln Arg Phe Cys	
735 740 745 750	
aag ctg cgg aag ata atg aac acc aag acc tac ctg gag tgg ccc atg	2427
Lys Leu Arg Lys Ile Met Asn Thr Lys Thr Tyr Leu Glu Trp Pro Met	

755 760 765
 gac gag gct cag cgg gaa gga ttt tgg gta aat ctg aga gct gcg ata 2475
 Asp Glu Ala Gln Arg Glu Gly Phe Trp Val Asn Leu Arg Ala Ala Ile
 770 775 780
 aag tcc tag gttcccatat ttaagaccag tctttgtcta gttgggatct 2524
 Lys Ser
 785
 ttatgtcact agttatagtt aagttcattc agacataatt atataaaaac tacgtggatg 2584
 taccgtcatt tgagga. 2600

<210> 6
 <211> 784
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 6
 Met Pro His Thr Leu Trp Met Val Trp Val Leu Gly Val Ile Ile Ser
 1 5 10 15
 Leu Ser Lys Glu Glu Ser Ser Asn Gln Ala Ser Leu Ser Cys Asp Arg
 20 25 30
 Asn Gly Ile Cys Lys Gly Ser Ser Gly Ser Leu Asn Ser Ile Pro Ser
 35 40 45
 Gly Leu Thr Glu Ala Val Lys Ser Leu Asp Leu Ser Asn Asn Arg Ile
 50 55 60
 Thr Tyr Ile Ser Asn Ser Asp Leu Gln Arg Cys Val Asn Leu Gln Ala
 65 70 75 80
 Leu Val Leu Thr Ser Asn Gly Ile Asn Thr Ile Glu Glu Asp Ser Phe
 85 90 95
 Ser Ser Leu Gly Ser Leu Glu His Leu Asp Leu Ser Tyr Asn Tyr Leu
 100 105 110
 Ser Asn Leu Ser Ser Ser Trp Phe Lys Pro Leu Ser Ser Leu Thr Phe
 115 120 125
 Leu Asn Leu Leu Gly Asn Pro Tyr Lys Thr Leu Gly Glu Thr Ser Leu
 130 135 140
 Phe Ser His Leu Thr Lys Leu Gln Ile Leu Arg Val Gly Asn Met Asp
 145 150 155 160
 Thr Phe Thr Lys Ile Gln Arg Lys Asp Phe Ala Gly Leu Thr Phe Leu
 165 170 175
 Glu Glu Leu Glu Ile Asp Ala Ser Asp Leu Gln Ser Tyr Glu Pro Lys
 180 185 190
 Ser Leu Lys Ser Ile Gln Asn Val Ser His Leu Ile Leu His Met Lys
 195 200 205
 Gln His Ile Leu Leu Leu Glu Ile Phe Val Asp Val Thr Ser Ser Val

210	215	220
Glu Cys Leu Glu Leu Arg Asp Thr Asp Leu Asp Thr Phe His Phe Ser 225 230 235 240		
Glu Leu Ser Thr Gly Glu Thr Asn Ser Leu Ile Lys Lys Phe Thr Phe 245 250 255		
Arg Asn Val Lys Ile Thr Asp Glu Ser Leu Phe Gln Val Met Lys Leu 260 265 270		
Leu Asn Gln Ile Ser Gly Leu Leu Glu Leu Glu Phe Asp Asp Cys Thr 275 280 285		
Leu Asn Gly Val Gly Asn Phe Arg Ala Ser Asp Asn Asp Arg Val Ile 290 295 300		
Asp Pro Gly Lys Val Glu Thr Leu Thr Ile Arg Arg Leu His Ile Pro 305 310 315 320		
Arg Phe Tyr Leu Phe Tyr Asp Leu Ser Thr Leu Tyr Ser Leu Thr Glu 325 330 335		
Arg Val Lys Arg Ile Thr Val Glu Asn Ser Lys Val Phe Leu Val Pro 340 345 350		
Cys Leu Leu Ser Gln His Leu Lys Ser Leu Glu Tyr Leu Asp Leu Ser 355 360 365		
Glu Asn Leu Met Val Glu Glu Tyr Leu Lys Asn Ser Ala Cys Glu Asp 370 375 380		
Ala Trp Pro Ser Leu Gln Thr Leu Ile Leu Arg Gln Asn His Leu Ala 385 390 395 400		
Ser Leu Glu Lys Thr Gly Glu Thr Leu Leu Thr Leu Lys Asn Leu Thr 405 410 415		
Asn Ile Asp Ile Ser Lys Asn Ser Phe His Ser Met Pro Glu Thr Cys 420 425 430		
Gln Trp Pro Glu Lys Met Lys Tyr Leu Asn Leu Ser Ser Thr Arg Ile 435 440 445		
His Ser Val Thr Gly Cys Ile Pro Lys Thr Leu Glu Ile Leu Asp Val 450 455 460		
Ser Asn Asn Asn Leu Asn Leu Phe Ser Leu Asn Leu Pro Gln Leu Lys 465 470 475 480		
Glu Leu Tyr Ile Ser Arg Asn Lys Leu Met Thr Leu Pro Asp Ala Ser 485 490 495		
Leu Leu Pro Met Leu Leu Val Leu Lys Ile Ser Arg Asn Ala Ile Thr 500 505 510		
Thr Phe Ser Lys Glu Gln Leu Asp Ser Phe His Thr Leu Lys Thr Leu 515 520 525		
Glu Ala Gly Gly Asn Asn Phe Ile Cys Ser Cys Glu Phe Leu Ser Phe 530 535 540		

Thr Gln Glu Gln Gln Ala Leu Ala Lys Val Leu Ile Asp Trp Pro Ala
545 550 555 560

Asn Tyr Leu Cys Asp Ser Pro Ser His Val Arg Gly Gln Gln Val Gln
565 570 575

Asp Val Arg Leu Ser Val Ser Glu Cys His Arg Thr Ala Leu Val Ser
580 585 590

Gly Met Cys Cys Ala Leu Phe Leu Leu Ile Leu Leu Thr Gly Val Leu
595 600 605

Cys His Arg Phe His Gly Leu Trp Tyr Met Lys Met Met Trp Ala Trp
610 615 620

Leu Gln Ala Lys Arg Lys Pro Arg Lys Ala Pro Ser Arg Asn Ile Cys
625 630 635 640

Tyr Asp Ala Phe Val Ser Tyr Ser Glu Arg Asp Ala Tyr Trp Val Glu
645 650 655

Asn Leu Met Val Gln Glu Leu Glu Asn Phe Asn Pro Pro Phe Lys Leu
660 665 670

Cys Leu His Lys Arg Asp Phe Ile Pro Gly Lys Trp Ile Ile Asp Asn
675 680 685

Ile Ile Asp Ser Ile Glu Lys Ser His Lys Thr Val Phe Val Leu Ser
690 695 700

Glu Asn Phe Val Lys Ser Glu Trp Cys Lys Tyr Glu Leu Asp Phe Ser
705 710 715 720

His Phe Arg Leu Phe Glu Glu Asn Asn Asp Ala Ala Ile Leu Ile Leu
725 730 735

Leu Glu Pro Ile Glu Lys Lys Ala Ile Pro Gln Arg Phe Cys Lys Leu
740 745 750

Arg Lys Ile Met Asn Thr Lys Thr Tyr Leu Glu Trp Pro Met Asp Glu
755 760 765

Ala Gln Arg Glu Gly Phe Trp Val Asn Leu Arg Ala Ala Ile Lys Ser
770 775 780

<210> 7

<211> 3811

<212> ADNc

<213> Homo sapiens

<220>

<221> CDS

<222> (285)..(2684)

<223> Récepteur Tlr4 d'origine humaine.

<400> 7

acagggccac tgctgctcac agaagcagtg aggatgatgc caggatgatg tctgcctcgc 60

gcctggctgg gactctgac ccagccatgg ccttctcttc ctgcgtgaga ccagaaagct 120

gggagccctg	cgtggagact	tggccctaaa	ccacacagaa	gagctggcat	gaaaccaga	180
gctttcagac	tccggagcct	cagcccttca	ccccgattcc	attgcttctt	gctaaatgct	240
gccgttttat	cacggagggtg	gttcctaata	ttacttatca	atgc	atg gag ctg aat	296
					Met Glu Leu Asn	
					1	
ttc tac aaa atc ccc gac aac ctc ccc ttc tca acc aag aac ctg gac	344					
Phe Tyr Lys Ile Pro Asp Asn Leu Pro Phe Ser Thr Lys Asn Leu Asp						
5 10 15 20						
ctg agc ttt aat ccc ctg agg cat tta ggc agc tat agc ttc ttc agt	392					
Leu Ser Phe Asn Pro Leu Arg His Leu Gly Ser Tyr Ser Phe Phe Ser						
25 30 35						
ttc cca gaa ctg cag gtg ctg gat tta tcc agg tgt gaa atc cag aca	440					
Phe Pro Glu Leu Gln Val Leu Asp Leu Ser Arg Cys Glu Ile Gln Thr						
40 45 50						
att gaa gat ggg gca tat cag agc cta agc cac ctc tct acc tta ata	488					
Ile Glu Asp Gly Ala Tyr Gln Ser Leu Ser His Leu Ser Thr Leu Ile						
55 60 65						
ttg aca gga aac ccc atc cag agt tta gcc ctg gga gcc ttt tct gga	536					
Leu Thr Gly Asn Pro Ile Gln Ser Leu Ala Leu Gly Ala Phe Ser Gly						
70 75 80						
cta tca agt tta cag aag ctg gtg gct gtg gag aca aat cta gca tct	584					
Leu Ser Ser Leu Gln Lys Leu Val Ala Val Glu Thr Asn Leu Ala Ser						
85 90 95 100						
cta gag aac ttc ccc att gga cat ctc aaa act ttg aaa gaa ctt aat	632					
Leu Glu Asn Phe Pro Ile Gly His Leu Lys Thr Leu Lys Glu Leu Asn						
105 110 115						
gtg gct cac aat ctt atc caa tct ttc aaa tta cct gag tat ttt tct	680					
Val Ala His Asn Leu Ile Gln Ser Phe Lys Leu Pro Glu Tyr Phe Ser						
120 125 130						
aat ctg acc aat cta gag cac ttg gac ctt tcc agc aac aag att caa	728					
Asn Leu Thr Asn Leu Glu His Leu Asp Leu Ser Ser Asn Lys Ile Gln						
135 140 145						
agt att tat tgc aca gac ttg cgg gtt cta cat caa atg ccc cta ctc	776					
Ser Ile Tyr Cys Thr Asp Leu Arg Val Leu His Gln Met Pro Leu Leu						
150 155 160						
aat ctc tct tta gac ctg tcc ctg aac cct atg aac ttt atc caa cca	824					
Asn Leu Ser Leu Asp Leu Ser Leu Asn Pro Met Asn Phe Ile Gln Pro						
165 170 175 180						
ggg gca ttt aaa gaa att agg ctt cat aag ctg act tta aga aat aat	872					
Gly Ala Phe Lys Glu Ile Arg Leu His Lys Leu Thr Leu Arg Asn Asn						
185 190 195						
ttt gat agt tta aat gta atg aaa act tgt att caa ggt ctg gct ggt	920					
Phe Asp Ser Leu Asn Val Met Lys Thr Cys Ile Gln Gly Leu Ala Gly						
200 205 210						
tta gaa gtc cat cgt ttg gtt ctg gga gaa ttt aga aat gaa gga aac	968					

Leu Glu Val His Arg Leu Val Leu Gly Glu Phe Arg Asn Glu Gly Asn	
215 220 225	
ttg gaa aag ttt gac aaa tct gct cta gag ggc ctg tgc aat ttg acc	1016
Leu Glu Lys Phe Asp Lys Ser Ala Leu Glu Gly Leu Cys Asn Leu Thr	
230 235 240	
att gaa gaa ttc cga tta gca tac tta gac tac tac ctc gat gat att	1064
Ile Glu Glu Phe Arg Leu Ala Tyr Leu Asp Tyr Tyr Leu Asp Asp Ile	
245 250 255 260	
att gac tta ttt aat tgt ttg aca aat gtt tct tca ttt tcc ctg gtg	1112
Ile Asp Leu Phe Asn Cys Leu Thr Asn Val Ser Ser Phe Ser Leu Val	
265 270 275	
agt gtg act att gaa agg gta aaa gac ttt tct tat aat ttc gga tgg	1160
Ser Val Thr Ile Glu Arg Val Lys Asp Phe Ser Tyr Asn Phe Gly Trp	
280 285 290	
caa cat tta gaa tta gtt aac tgt aaa ttt gga cag ttt ccc aca ttg	1208
Gln His Leu Glu Leu Val Asn Cys Lys Phe Gly Gln Phe Pro Thr Leu	
295 300 305	
aaa ctc aaa tct ctc aaa agg ctt act ttc act tcc aac aaa ggt ggg	1256
Lys Leu Lys Ser Leu Lys Arg Leu Thr Phe Thr Ser Asn Lys Gly Gly	
310 315 320	
aat gct ttt tca gaa gtt gat cta cca agc ctt gag ttt cta gat ctc	1304
Asn Ala Phe Ser Glu Val Asp Leu Pro Ser Leu Glu Phe Leu Asp Leu	
325 330 335 340	
agt aga aat ggc ttg agt ttc aaa ggt tgc tgt tct caa agt gat ttt	1352
Ser Arg Asn Gly Leu Ser Phe Lys Gly Cys Cys Ser Gln Ser Asp Phe	
345 350 355	
ggg aca acc agc cta aag tat tta gat ctg agc ttc aat ggt gtt att	1400
Gly Thr Thr Ser Leu Lys Tyr Leu Asp Leu Ser Phe Asn Gly Val Ile	
360 365 370	
acc atg agt tca aac ttc ttg ggc tta gaa caa cta gaa cat ctg gat	1448
Thr Met Ser Ser Asn Phe Leu Gly Leu Glu Gln Leu Glu His Leu Asp	
375 380 385	
ttc cag cat tcc aat ttg aaa caa atg agt gag ttt tca gta ttc cta	1496
Phe Gln His Ser Asn Leu Lys Gln Met Ser Glu Phe Ser Val Phe Leu	
390 395 400	
tca ctc aga aac ctc att tac ctt gac att tct cat act cac acc aga	1544
Ser Leu Arg Asn Leu Ile Tyr Leu Asp Ile Ser His Thr His Thr Arg	
405 410 415 420	
gtt gct ttc aat ggc atc ttc aat ggc ttg tcc agt ctc gaa gtc ttg	1592
Val Ala Phe Asn Gly Ile Phe Asn Gly Leu Ser Ser Leu Glu Val Leu	
425 430 435	
aaa atg gct ggc aat tct ttc cag gaa aac ttc ctt cca gat atc ttc	1640
Lys Met Ala Gly Asn Ser Phe Gln Glu Asn Phe Leu Pro Asp Ile Phe	
440 445 450	
aca gag ctg aga aac ttg acc ttc ctg gac ctc tct cag tgt caa ctg	1688
Thr Glu Leu Arg Asn Leu Thr Phe Leu Asp Leu Ser Gln Cys Gln Leu	
455 460 465	

gag cag ttg tct cca aca gca ttt aac tca ctc tcc agt ctt cag gta	1736
Glu Gln Leu Ser Pro Thr Ala Phe Asn Ser Leu Ser Ser Leu Gln Val	
470 475 480	
cta aat atg agc cac aac aac ttc ttt tca ttg gat acg ttt cct tat	1784
Leu Asn Met Ser His Asn Asn Phe Phe Ser Leu Asp Thr Phe Pro Tyr	
485 490 495 500	
aag tgt ctg aac tcc ctc cag gtt ctt gat tac agt ctc aat cac ata	1832
Lys Cys Leu Asn Ser Leu Gln Val Leu Asp Tyr Ser Leu Asn His Ile	
505 510 515	
atg act tcc aaa aaa cag gaa cta cag cat ttt cca agt agt cta gct	1880
Met Thr Ser Lys Lys Gln Glu Leu Gln His Phe Pro Ser Ser Leu Ala	
520 525 530	
ttc tta aat ctt act cag aat gac ttt gct tgt act tgt gaa cac cag	1928
Phe Leu Asn Leu Thr Gln Asn Asp Phe Ala Cys Thr Cys Glu His Gln	
535 540 545	
agt ttc ctg caa tgg atc aag gac cag agg cag ctc ttg gtg gaa gtt	1976
Ser Phe Leu Gln Trp Ile Lys Asp Gln Arg Gln Leu Leu Val Glu Val	
550 555 560	
gaa cga atg gaa tgt gca aca cct tca gat aag cag ggc atg cct gtg	2024
Glu Arg Met Glu Cys Ala Thr Pro Ser Asp Lys Gln Gly Met Pro Val	
565 570 575 580	
ctg agt ttg aat atc acc tgt cag atg aat aag acc atc att ggt gtg	2072
Leu Ser Leu Asn Ile Thr Cys Gln Met Asn Lys Thr Ile Ile Gly Val	
585 590 595	
tcg gtc ctc agt gtg ctt gta gta tct gtt gta gca gtt ctg gtc tat	2120
Ser Val Leu Ser Val Leu Val Val Ser Val Val Ala Val Leu Val Tyr	
600 605 610	
aag ttc tat ttt cac ctg atg ctt ctt gct ggc tgc ata aag tat ggt	2168
Lys Phe Tyr Phe His Leu Met Leu Leu Ala Gly Cys Ile Lys Tyr Gly	
615 620 625	
aga ggt gaa aac atc tat gat gcc ttt gtt atc tac tca agc cag gat	2216
Arg Gly Glu Asn Ile Tyr Asp Ala Phe Val Ile Tyr Ser Ser Gln Asp	
630 635 640	
gag gac tgg gta agg aat gag cta gta aag aat tta gaa gaa ggg gtg	2264
Glu Asp Trp Val Arg Asn Glu Leu Val Lys Asn Leu Glu Glu Gly Val	
645 650 655 660	
cct cca ttt cag ctc tgc ctt cac tac aga gac ttt att ccc ggt gtg	2312
Pro Pro Phe Gln Leu Cys Leu His Tyr Arg Asp Phe Ile Pro Gly Val	
665 670 675	
gcc att gct gcc aac atc atc cat gaa ggt ttc cat aaa agc cga aag	2360
Ala Ile Ala Ala Asn Ile Ile His Glu Gly Phe His Lys Ser Arg Lys	
680 685 690	
gtg att gtt gtg gtg tcc cag cac ttc atc cag agc cgc tgg tgt atc	2408
Val Ile Val Val Val Ser Gln His Phe Ile Gln Ser Arg Trp Cys Ile	
695 700 705	
ttt gaa tat gag att gct cag acc tgg cag ttt ctg agc agt cgt gct	2456

Phe Glu Tyr Glu Ile Ala Gln Thr Trp Gln Phe Leu Ser Ser Arg Ala
 710 715 720
 ggt atc atc ttc att gtc ctg cag aag gtg gag aag acc ctg ctc agg 2504
 Gly Ile Ile Phe Ile Val Leu Gln Lys Val Glu Lys Thr Leu Leu Arg
 725 730 735 740
 cag cag gtg gag ctg tac cgc ctt ctc agc agg aac act tac ctg gag 2552
 Gln Gln Val Glu Leu Tyr Arg Leu Leu Ser Arg Asn Thr Tyr Leu Glu
 745 750 755
 tgg gag gac agt gtc ctg ggg cgg cac atc ttc tgg aga cga ctc aga 2600
 Trp Glu Asp Ser Val Leu Gly Arg His Ile Phe Trp Arg Arg Leu Arg
 760 765 770
 aaa gcc ctg ctg gat ggt aaa tca tgg aat cca gaa gga aca gtg ggt 2648
 Lys Ala Leu Leu Asp Gly Lys Ser Trp Asn Pro Glu Gly Thr Val Gly
 775 780 785
 aca gga tgc aat tgg cag gaa gca aca tct atc tga agaggaaaaa 2694
 Thr Gly Cys Asn Trp Gln Glu Ala Thr Ser Ile
 790 795 800
 taaaaacctc ctgaggcatt tcttgcccag ctgggtccaa cacttggtca gttaataagt 2754
 attaaatgct gccacatgtc aggccttatg ctaagggtga gtaattccat ggtgcactag 2814
 atatgcaggg ctgctaattc caaggagctt ccagtgcaga gggaataaat gctagactaa 2874
 aatacagagt cttccaggtg ggcatttcaa ccaactcagt caaggaaacc atgacaaaaga 2934
 aagtcatttc aactcttacc tcatcaagtt gaataaagac agagaaaaca gaaagagaca 2994
 ttgttctttt cctgagtcct ttgaatggaa attgtattat gttatagcca tcataaaacc 3054
 attttggtag ttttgactga actgggtgtt cactttttcc tttttgattg aatacaattt 3114
 aaattctact tgatgactgc agtcgtcaag gggctcctga tgcaagatgc cccttccatt 3174
 ttaagtctgt ctccttacag aggttaaagt ctaatggcta attcctaagg aaacctgatt 3234
 aacacatgct cacaaccatc ctggtcattc tcgaacatgt tctatttttt aactaatcac 3294
 ccctgatata tttttatttt tatatatcca gttttcattt ttttacgtct tgcctataag 3354
 ctaatatcat aaataagggt gtttaagacg tgcttcaa atccatatta accactattt 3414
 ttcaaggaag tatggaaaag tacactctgt cactttgtca ctcgatgtca ttccaaagtt 3474
 attgcctact aagtaatgac tgtcatgaaa gcagcattga aataatttgt ttaaaggggg 3534
 cactctttta aacgggaaga aaatttccgc ttcttggtct tatcatggac aatttgggct 3594
 ataggcatga aggaagtggg attacctcag gaagtacct tttcttgatt ccagaaacat 3654
 atgggctgat aaacccgggg tgacctcatg aaatgagttg cagcagatgt ttattttttt 3714
 cagaacaagt gatgtttgat ggacctatga atctatttag ggagacacag atggctggga 3774
 tccctccctt gtacctttct cactgacagg agaacta 3811

<210> 8
 <211> 799
 <212> PRT
 <213> Homo sapiens

<400> 8

```

Met Glu Leu Asn Phe Tyr Lys Ile Pro Asp Asn Leu Pro Phe Ser Thr
  1           5           10           15

Lys Asn Leu Asp Leu Ser Phe Asn Pro Leu Arg His Leu Gly Ser Tyr
      20           25           30

Ser Phe Phe Ser Phe Pro Glu Leu Gln Val Leu Asp Leu Ser Arg Cys
      35           40           45

Glu Ile Gln Thr Ile Glu Asp Gly Ala Tyr Gln Ser Leu Ser His Leu
  50           55           60

Ser Thr Leu Ile Leu Thr Gly Asn Pro Ile Gln Ser Leu Ala Leu Gly
  65           70           75           80

Ala Phe Ser Gly Leu Ser Ser Leu Gln Lys Leu Val Ala Val Glu Thr
      85           90           95

Asn Leu Ala Ser Leu Glu Asn Phe Pro Ile Gly His Leu Lys Thr Leu
      100          105          110

Lys Glu Leu Asn Val Ala His Asn Leu Ile Gln Ser Phe Lys Leu Pro
      115          120          125

Glu Tyr Phe Ser Asn Leu Thr Asn Leu Glu His Leu Asp Leu Ser Ser
      130          135          140

Asn Lys Ile Gln Ser Ile Tyr Cys Thr Asp Leu Arg Val Leu His Gln
      145          150          155          160

Met Pro Leu Leu Asn Leu Ser Leu Asp Leu Ser Leu Asn Pro Met Asn
      165          170          175

Phe Ile Gln Pro Gly Ala Phe Lys Glu Ile Arg Leu His Lys Leu Thr
      180          185          190

Leu Arg Asn Asn Phe Asp Ser Leu Asn Val Met Lys Thr Cys Ile Gln
      195          200          205

Gly Leu Ala Gly Leu Glu Val His Arg Leu Val Leu Gly Glu Phe Arg
      210          215          220

Asn Glu Gly Asn Leu Glu Lys Phe Asp Lys Ser Ala Leu Glu Gly Leu
      225          230          235          240

Cys Asn Leu Thr Ile Glu Glu Phe Arg Leu Ala Tyr Leu Asp Tyr Tyr
      245          250          255

Leu Asp Asp Ile Ile Asp Leu Phe Asn Cys Leu Thr Asn Val Ser Ser
      260          265          270

Phe Ser Leu Val Ser Val Thr Ile Glu Arg Val Lys Asp Phe Ser Tyr
      275          280          285

Asn Phe Gly Trp Gln His Leu Glu Leu Val Asn Cys Lys Phe Gly Gln

```

290	295	300
Phe Pro Thr Leu Lys Leu Lys Ser Leu Lys Arg Leu Thr Phe Thr Ser 305	310	315 320
Asn Lys Gly Gly Asn Ala Phe Ser Glu Val Asp Leu Pro Ser Leu Glu 325	330	335
Phe Leu Asp Leu Ser Arg Asn Gly Leu Ser Phe Lys Gly Cys Cys Ser 340	345	350
Gln Ser Asp Phe Gly Thr Thr Ser Leu Lys Tyr Leu Asp Leu Ser Phe 355	360	365
Asn Gly Val Ile Thr Met Ser Ser Asn Phe Leu Gly Leu Glu Gln Leu 370	375	380
Glu His Leu Asp Phe Gln His Ser Asn Leu Lys Gln Met Ser Glu Phe 385	390	395 400
Ser Val Phe Leu Ser Leu Arg Asn Leu Ile Tyr Leu Asp Ile Ser His 405	410	415
Thr His Thr Arg Val Ala Phe Asn Gly Ile Phe Asn Gly Leu Ser Ser 420	425	430
Leu Glu Val Leu Lys Met Ala Gly Asn Ser Phe Gln Glu Asn Phe Leu 435	440	445
Pro Asp Ile Phe Thr Glu Leu Arg Asn Leu Thr Phe Leu Asp Leu Ser 450	455	460
Gln Cys Gln Leu Glu Gln Leu Ser Pro Thr Ala Phe Asn Ser Leu Ser 465	470	475 480
Ser Leu Gln Val Leu Asn Met Ser His Asn Asn Phe Phe Ser Leu Asp 485	490	495
Thr Phe Pro Tyr Lys Cys Leu Asn Ser Leu Gln Val Leu Asp Tyr Ser 500	505	510
Leu Asn His Ile Met Thr Ser Lys Lys Gln Glu Leu Gln His Phe Pro 515	520	525
Ser Ser Leu Ala Phe Leu Asn Leu Thr Gln Asn Asp Phe Ala Cys Thr 530	535	540
Cys Glu His Gln Ser Phe Leu Gln Trp Ile Lys Asp Gln Arg Gln Leu 545	550	555 560
Leu Val Glu Val Glu Arg Met Glu Cys Ala Thr Pro Ser Asp Lys Gln 565	570	575
Gly Met Pro Val Leu Ser Leu Asn Ile Thr Cys Gln Met Asn Lys Thr 580	585	590
Ile Ile Gly Val Ser Val Leu Ser Val Leu Val Val Ser Val Val Ala 595	600	605
Val Leu Val Tyr Lys Phe Tyr Phe His Leu Met Leu Leu Ala Gly Cys 610	615	620

Ile Lys Tyr Gly Arg Gly Glu Asn Ile Tyr Asp Ala Phe Val Ile Tyr
 625 630 635 640

Ser Ser Gln Asp Glu Asp Trp Val Arg Asn Glu Leu Val Lys Asn Leu
 645 650 655

Glu Glu Gly Val Pro Pro Phe Gln Leu Cys Leu His Tyr Arg Asp Phe
 660 665 670

Ile Pro Gly Val Ala Ile Ala Ala Asn Ile Ile His Glu Gly Phe His
 675 680 685

Lys Ser Arg Lys Val Ile Val Val Val Ser Gln His Phe Ile Gln Ser
 690 695 700

Arg Trp Cys Ile Phe Glu Tyr Glu Ile Ala Gln Thr Trp Gln Phe Leu
 705 710 715 720

Ser Ser Arg Ala Gly Ile Ile Phe Ile Val Leu Gln Lys Val Glu Lys
 725 730 735

Thr Leu Leu Arg Gln Gln Val Glu Leu Tyr Arg Leu Leu Ser Arg Asn
 740 745 750

Thr Tyr Leu Glu Trp Glu Asp Ser Val Leu Gly Arg His Ile Phe Trp
 755 760 765

Arg Arg Leu Arg Lys Ala Leu Leu Asp Gly Lys Ser Trp Asn Pro Glu
 770 775 780

Gly Thr Val Gly Thr Gly Cys Asn Trp Gln Glu Ala Thr Ser Ile
 785 790 795

<210> 9
 <211> 1327
 <212> ADNc
 <213> Homo sapiens

<220>
 <221> CDS
 <222> (76)..(1203)
 <223> Récepteur CD14 d'origine humaine

<400> 9
 gccgctgtgt aggaagaag ctaaagcact tccagagcct gtccggagct cagaggttcg 60

gaagacttat cgacc atg gag cgc gcg tcc tgc ttg ttg ctg ctg ctg ctg 111
 Met Glu Arg Ala Ser Cys Leu Leu Leu Leu Leu
 1 5 10

ccg ctg gtg cac gtc tct gcg acc acg cca gaa cct tgt gag ctg gac 159
 Pro Leu Val His Val Ser Ala Thr Thr Pro Glu Pro Cys Glu Leu Asp
 15 20 25

gat gaa gat ttc cgc tgc gtc tgc aac ttc tcc gaa cct cag ccc gac 207
 Asp Glu Asp Phe Arg Cys Val Cys Asn Phe Ser Glu Pro Gln Pro Asp
 30 35 40

tgg tcc gaa gcc ttc cag tgt gtg tct gca gta gag gtg gag atc cat 255
 Trp Ser Glu Ala Phe Gln Cys Val Ser Ala Val Glu Val Glu Ile His

45	50	55	60	
gcc ggc ggt ctc aac cta gag ccg ttt cta aag cgc gtc gat gcg gac				303
Ala Gly Gly Leu Asn Leu Glu Pro Phe Leu Lys Arg Val Asp Ala Asp				
	65	70	75	
gcc gac ccg cgg cag tat gct gac acg gtc aag gct ctc cgc gtg cgg				351
Ala Asp Pro Arg Gln Tyr Ala Asp Thr Val Lys Ala Leu Arg Val Arg				
	80	85	90	
cgg ctc aca gtg gga gcc gca cag gtt cct gct cag cta ctg gta ggc				399
Arg Leu Thr Val Gly Ala Ala Gln Val Pro Ala Gln Leu Leu Val Gly				
	95	100	105	
gcc ctg cgt gtg cta gcg tac tcc cgc ctc aag gaa ctg acg ctc gag				447
Ala Leu Arg Val Leu Ala Tyr Ser Arg Leu Lys Glu Leu Thr Leu Glu				
	110	115	120	
gac cta aag ata acc ggc acc atg cct ccg ctg cct ctg gaa gcc aca				495
Asp Leu Lys Ile Thr Gly Thr Met Pro Pro Leu Pro Leu Glu Ala Thr				
	125	130	135	140
gga ctt gca ctt tcc agc ttg cgc cta cgc aac gtg tgc tgg gcg aca				543
Gly Leu Ala Leu Ser Ser Leu Arg Leu Arg Asn Val Ser Trp Ala Thr				
	145	150	155	
ggg cgt tct tgg ctc gcc gag ctg cag cag tgg ctc aag cca ggc ctc				591
Gly Arg Ser Trp Leu Ala Glu Leu Gln Gln Trp Leu Lys Pro Gly Leu				
	160	165	170	
aag gta ctg agc att gcc caa gca cac tcg cct gcc ttt tcc tgc gaa				639
Lys Val Leu Ser Ile Ala Gln Ala His Ser Pro Ala Phe Ser Cys Glu				
	175	180	185	
cag gtt cgc gcc ttc ccg gcc ctt acc agc cta gac ctg tct gac aat				687
Gln Val Arg Ala Phe Pro Ala Leu Thr Ser Leu Asp Leu Ser Asp Asn				
	190	195	200	
cct gga ctg ggc gaa cgc gga ctg atg gcg gct ctc tgt ccc cac aag				735
Pro Gly Leu Gly Glu Arg Gly Leu Met Ala Ala Leu Cys Pro His Lys				
	205	210	215	220
ttc ccg gcc atc cag aat cta gcg ctg cgc aac aca gga atg gag acg				783
Phe Pro Ala Ile Gln Asn Leu Ala Leu Arg Asn Thr Gly Met Glu Thr				
	225	230	235	
ccc aca ggc gtg tgc gcc gca ctg gcg gcg gca ggt gtg cag ccc cac				831
Pro Thr Gly Val Cys Ala Ala Leu Ala Ala Ala Gly Val Gln Pro His				
	240	245	250	
agc cta gac ctc agc cac aac tcg ctg cgc gcc acc gta aac cct agc				879
Ser Leu Asp Leu Ser His Asn Ser Leu Arg Ala Thr Val Asn Pro Ser				
	255	260	265	
gct ccg aga tgc atg tgg tcc agc gcc ctg aac tcc ctc aat ctg tcg				927
Ala Pro Arg Cys Met Trp Ser Ser Ala Leu Asn Ser Leu Asn Leu Ser				
	270	275	280	
ttc gct ggg ctg gaa cag gtg cct aaa gga ctg cca gcc aag ctc aga				975
Phe Ala Gly Leu Glu Gln Val Pro Lys Gly Leu Pro Ala Lys Leu Arg				
	285	290	295	300

gtg ctc gat ctc agc tgc aac aga ctg aac agg gcg ccg cag cct gac 1023
Val Leu Asp Leu Ser Cys Asn Arg Leu Asn Arg Ala Pro Gln Pro Asp
305 310 315

gag ctg ccc gag gtg gat aac ctg aca ctg gac ggg aat ccc ttc ctg 1071
Glu Leu Pro Glu Val Asp Asn Leu Thr Leu Asp Gly Asn Pro Phe Leu
320 325 330

gtc cct gga act gcc ctc ccc cac gag ggc tca atg aac tcc ggc gtg 1119
Val Pro Gly Thr Ala Leu Pro His Glu Gly Ser Met Asn Ser Gly Val
335 340 345

gtc cca gcc tgt gca cgt tcg acc ctg tcg gtg ggg gtg tcg gga acc 1167
Val Pro Ala Cys Ala Arg Ser Thr Leu Ser Val Gly Val Ser Gly Thr
350 355 360

ctg gtg ctg ctc caa ggg gcc cgg ggc ttt gcc taa gatccaagac 1213
Leu Val Leu Leu Gln Gly Ala Arg Gly Phe Ala
365 370 375

agaataatga atggactcaa actgccttgg cttcagggga gtcccgtcag gacgttgagg 1273

acttttcgac caattcaacc ctttgcccca cctttattaa aatcttaaac aacg 1327

```
<210> 10
<211> 375
<212> PRT
<213> Homo sapiens
```

<400> 10
Met Glu Arg Ala Ser Cys Leu Leu Leu Leu Leu Pro Leu Val His
1 5 10 15

Val Ser Ala Thr Thr Pro Glu Pro Cys Glu Leu Asp Asp Glu Asp Phe
20 25 30

Arg-Cys Val Cys Asn Phe Ser Glu Pro Gln Pro Asp Trp Ser Glu Ala
35 40 45

Phe Gln Cys Val Ser Ala Val Glu Val Glu Ile His Ala Gly Gly Leu
50 55 60

Asn Leu Glu Pro Phe Leu Lys Arg Val Asp Ala Asp Ala Asp Pro Arg
65 70 75 80

Gln Tyr Ala Asp Thr Val Lys Ala Leu Arg Val Arg Arg Leu Thr Val
85 90 95

Gly Ala Ala Gln Val Pro Ala Gln Leu Leu Val Gly Ala Leu Arg Val
100 105 110

Leu Ala Tyr Ser Arg Leu Lys Glu Leu Thr Leu Glu Asp Leu Lys Ile
115 120 125

Thr Gly Thr Met Pro Pro Leu Pro Leu Glu Ala Thr Gly Leu Ala Leu
130 135 140

Ser Ser Leu Arg Leu Arg Asn Val Ser Trp Ala Thr Gly Arg Ser Trp
145 150 155 160

Leu Ala Glu Leu Gln Gln Trp Leu Lys Pro Gly Leu Lys Val Leu Ser
 165 170 175

 Ile Ala Gln Ala His Ser Pro Ala Phe Ser Cys Glu Gln Val Arg Ala
 180 185 190

 Phe Pro Ala Leu Thr Ser Leu Asp Leu Ser Asp Asn Pro Gly Leu Gly
 195 200 205

 Glu Arg Gly Leu Met Ala Ala Leu Cys Pro His Lys Phe Pro Ala Ile
 210 215 220

 Gln Asn Leu Ala Leu Arg Asn Thr Gly Met Glu Thr Pro Thr Gly Val
 225 230 235 240

 Cys Ala Ala Leu Ala Ala Ala Gly Val Gln Pro His Ser Leu Asp Leu
 245 250 255

 Ser His Asn Ser Leu Arg Ala Thr Val Asn Pro Ser Ala Pro Arg Cys
 260 265 270

 Met Trp Ser Ser Ala Leu Asn Ser Leu Asn Leu Ser Phe Ala Gly Leu
 275 280 285

 Glu Gln Val Pro Lys Gly Leu Pro Ala Lys Leu Arg Val Leu Asp Leu
 290 295 300

 Ser Cys Asn Arg Leu Asn Arg Ala Pro Gln Pro Asp Glu Leu Pro Glu
 305 310 315 320

 Val Asp Asn Leu Thr Leu Asp Gly Asn Pro Phe Leu Val Pro Gly Thr
 325 330 335

 Ala Leu Pro His Glu Gly Ser Met Asn Ser Gly Val Val Pro Ala Cys
 340 345 350

 Ala Arg Ser Thr Leu Ser Val Gly Val Ser Gly Thr Leu Val Leu Leu
 355 360 365

 Gln Gly Ala Arg Gly Phe Ala
 370 375

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/FR 01/03352

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
 IPC 7 G01N33/68 A61K39/39

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 G01N A61K C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	ABRAHAM ROSHINI ET AL: "Modulation of immunogenicity and antigenicity of proteins by maleylation to target scavenger receptors on macrophages." JOURNAL OF IMMUNOLOGY, vol. 154, no. 1, 1995, pages 1-8, XP002174946 ISSN: 0022-1767 the whole document	1-20
A	EP 0 783 892 A (NAT INST IMMUNOLOGY) 16 July 1997 (1997-07-16) the whole document --- -/--	1-20

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

- *A* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- *E* earlier document but published on or after the International filing date
- *L* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- *O* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- *P* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- *T* later document published after the International filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- *X* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- *Y* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- *G* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the International search

27 February 2002

Date of mailing of the International search report

15/03/2002

Name and mailing address of the ISA
 European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Pellegrini, P

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No

PCT/FR 01/03352

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>HAEUW JEAN-FRANCOIS ET AL: "The recombinant Klebsiella pneumoniae outer membrane protein OmpA has carrier properties for conjugated antigenic peptides." EUROPEAN JOURNAL OF BIOCHEMISTRY, vol. 255, no. 2, 2 July 1998 (1998-07-02), pages 446-454, XP002114947 ISSN: 0014-2956 the whole document</p> <p>---</p>	1-20
A	<p>EP 0 808 899 A (SMITHKLINE BEECHAM CORP) 26 November 1997 (1997-11-26) the whole document</p> <p>---</p>	1-20
A	<p>SINGH-JASUJA HARPREET ET AL: "The heat shock protein gp96 induces maturation of dendritic cells and down-regulation of its receptor." EUROPEAN JOURNAL OF IMMUNOLOGY, vol. 30, no. 8, August 2000 (2000-08), pages 2211-2215, XP002174948 ISSN: 0014-2980 the whole document</p> <p>---</p>	1-20
P,X	<p>JEANNIN PASCALE ET AL: "OmpA targets dendritic cells, induces their maturation and delivers antigen into the MHC class I presentation pathway." NATURE IMMUNOLOGY, vol. 1, no. 6, December 2000 (2000-12), pages 502-509, XP001015849 ISSN: 1529-2908 the whole document</p> <p>-----</p>	1-20

Follow-up of Box I.2

Claims nos.: 21-37

Claims 21-37 relate to a molecule defined by reference to a desirable property, in particular its capacity to bind with scavenger particles and to be signalled via a Toll receptor, and the pharmaceutical use of said molecules. The claims comprise all the molecules having said property, whereas the patent application provides a support basis as defined by PCT Article 6 and/or a disclosure as defined by PCT Article 5 for no specific molecule. In fact, it is explicitly specified in the description that "those novel molecules obtainable by implementing the inventive method do not include ligands known to-date which are capable of binding with scavenger receptors and signalled via a Toll receptor such as HSP, lipoproteins such as OspA, Klebsiella OmpA and pEA (Pseudomonas Exotoxin A)".

That lack of support basis and disclosure is such that it is not possible to carry out any meaningful search on the subject matter covered by Claims 21-37.

The applicant's attention is drawn to the fact that claims, or parts of claims, relating to inventions in respect of which no search report has been established need not be the subject of an international preliminary examination (PCT Rule 66.1(e)). The applicant is advised that the EPO policy when acting as International Preliminary examining Authority is normally not to carry out a preliminary examination on matter which has not been searched. This is the case irrespective of whether or not the claims are amended following receipt of the search report or during any Chapter II procedure.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/FR 01/03352

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0783892	A	16-07-1997	CA 2192717 A1	12-06-1998
			AU 698380 B2	29-10-1998
			AU 7410496 A	04-09-1997
			EP 0783892 A1	16-07-1997
<hr/>				
EP 0808899	A	26-11-1997	US 5916766 A	29-06-1999
			EP 0808899 A2	26-11-1997
			JP 10084977 A	07-04-1998
			US 6197931 B1	06-03-2001
<hr/>				

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dema Internationale No

PCT/FR 01/03352

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 7 G01N33/68 A61K39/39

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 G01N A61K C07K

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ, BIOSIS

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	ABRAHAM ROSHINI ET AL: "Modulation of immunogenicity and antigenicity of proteins by maleylation to target scavenger receptors on macrophages." JOURNAL OF IMMUNOLOGY, vol. 154, no. 1, 1995, pages 1-8, XP002174946 ISSN: 0022-1767 le document en entier ---	1-20
A	EP 0 783 892 A (NAT INST IMMUNOLOGY) 16 juillet 1997 (1997-07-16) le document en entier --- -/--	1-20



Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents



Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

- *A* document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent
- *E* document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date
- *L* document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)
- *O* document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens
- *P* document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

- *T* document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention
- *X* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément
- *Y* document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier
- *Z* document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

27 février 2002

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

15/03/2002

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale

Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Pellegrini, P

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Dema XXXXXXXXXX internationale No
PCT/FR 01/03352

C.(suite) DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	<p>HAEUW JEAN-FRANCOIS ET AL: "The recombinant Klebsiella pneumoniae outer membrane protein OmpA has carrier properties for conjugated antigenic peptides." EUROPEAN JOURNAL OF BIOCHEMISTRY, vol. 255, no. 2, 2 juillet 1998 (1998-07-02), pages 446-454, XP002114947 ISSN: 0014-2956 le document en entier ---</p>	1-20
A	<p>EP 0 808 899 A (SMITHKLINE BEECHAM CORP) 26 novembre 1997 (1997-11-26) le document en entier ---</p>	1-20
A	<p>SINGH-JASUJA HARPREET ET AL: "The heat shock protein gp96 induces maturation of dendritic cells and down-regulation of its receptor." EUROPEAN JOURNAL OF IMMUNOLOGY, vol. 30, no. 8, août 2000 (2000-08), pages 2211-2215, XP002174948 ISSN: 0014-2980 le document en entier ---</p>	1-20
P,X	<p>JEANNIN PASCALE ET AL: "OmpA targets dendritic cells, induces their maturation and delivers antigen into the MHC class I presentation pathway." NATURE IMMUNOLOGY, vol. 1, no. 6, décembre 2000 (2000-12), pages 502-509, XP001015849 ISSN: 1529-2908 le document en entier -----</p>	1-20

SUITE DES RENSEIGNEMENTS INDIQUES SUR PCT/ISA/ 210

Suite du cadre I.2

Revendications nos.: 21-37

Les revendications 21-37 se réfèrent à une molécule définie en faisant référence à une propriété souhaitable, en particulier à sa capacité de se lier aux récepteurs scavenger et de signaler via un récepteur Toll, et à l'utilisation pharmaceutique de cette molécule. Les revendications comprennent toutes les molécules ayant cette propriété, tandis que la demande de brevet ne donne un fondement au sens de l'Article 6 PCT et/ou un exposé au sens de l'article 5 PCT pour aucune molécule précise. En fait, il est explicitement précisé dans la description que "ce nouvelles molécules susceptibles d'être obtenues par la mise en oeuvre de la méthode selon l'invention n'englobent pas les ligands connus à ce jour qui seraient susceptibles de se lier aux récepteurs scavenger et signalées via un récepteur Toll tels que les HSP, les lipoprotéines telles que les OspA, l'OmpA de *Klebsiella pneumoniae* et le pEA (*Pseudomonas Exotoxin A*)".

Ce manque de fondement et exposé est tel qu'une recherche significative sur la matière couverte par les revendications 21-37 est impossible.

L'attention du déposant est attirée sur le fait que les revendications, ou des parties de revendications, ayant trait aux inventions pour lesquelles aucun rapport de recherche n'a été établi ne peuvent faire obligatoirement l'objet d'un rapport préliminaire d'examen (Règle 66.1(e) PCT). Le déposant est averti que la ligne de conduite adoptée par l'OEB agissant en qualité d'administration chargée de l'examen préliminaire international est, normalement, de ne pas procéder à un examen préliminaire sur un sujet n'ayant pas fait l'objet d'une recherche. Cette attitude restera inchangée, indépendamment du fait que les revendications aient ou n'aient pas été modifiées, soit après la réception du rapport de recherche, soit pendant une quelconque procédure sous le Chapitre II.

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande internationale No

PCT/FR 01/03352

Document brevet cité au rapport de recherche		Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)		Date de publication
EP 0783892	A	16-07-1997	CA	2192717 A1	12-06-1998
			AU	698380 B2	29-10-1998
			AU	7410496 A	04-09-1997
			EP	0783892 A1	16-07-1997

EP 0808899	A	26-11-1997	US	5916766 A	29-06-1999
			EP	0808899 A2	26-11-1997
			JP	10084977 A	07-04-1998
			US	6197931 B1	06-03-2001
